

Instituto Politécnico de Beja
Escola superior Agrária
Mestrado em Produção Integrada

RESISTÊNCIA AO GLIFOSATO EM POPULAÇÕES
DE *CONYZA CANADENSIS* L. NO ALENTEJO

Simão Pedro Camacho Mendes

Orientador: Doutor João Martim De Portugal E Vasconcelos Fernandes

Co-Orientador: Doutora Isabel Maria Silva Monteiro Miranda Calha

BEJA

2011

AGRADECIMENTOS

A realização desta tese de mestrado apenas foi possível graças à colaboração de diversas pessoas e entidades e ao incentivo da família e dos amigos, que de forma directa ou indirecta, contribuíram com a sua valiosa ajuda para este trabalho de tese. Os meus sinceros agradecimentos também para:

O Professor Doutor João Martim de Portugal e Vasconcelos Fernandes, orientador da Tese, pelas valiosas orientações e sugestões que me transmitiu ao longo deste trabalho, sem as quais não teria sido possível a realização deste trabalho, permanente pela disponibilidade em todas as fases deste trabalho, bem como nos esclarecimentos prestados;

A Doutora Eng^a Isabel Calha, co-orientadora desta tese, pela permanente disponibilidade na revisão do trabalho teórico e prático, bem como nos esclarecimentos prestados e pela criação das condições no INIA / INRB I.P que permitiram a sua realização;

os meus pais, irmãos e restante família, o meu agradecimento muito especial, pela amizade, incentivo e apoio constantes sempre transmitidos;

a todos quantos na INIA / INRB I.P me apoiaram de algum modo durante a realização deste trabalho.

A todos o meu sincero obrigado.

Simão

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	I
Índice	II
Índice de Figuras	V
Índice de Quadros.....	VIII
RESUMO	1
ABSTRACT	2
INTRODUÇÃO.....	3
PARTE I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
1 INTRODUÇÃO	4
2. ORIGEM E IMPORTÂNCIA A NÍVEL MUNDIAL E NACIONAL DO OLIVAL	5
2.1 DADOS ESTATÍSTICOS	5
2.1.1 Produção europeia e mundial (azeitona)	15
2.2 A CULTURA DA OLIVEIRA	18
2.3 VARIEDADES PORTUGUESAS	21
2.4 VARIEDADE ESPANHOLA	31
3. A PRODUÇÃO INTEGRADA.....	32
3.1 PROBLEMAS FITOSSANITÁRIOS.....	35
3.1.1 Pragas	35
3.1.2 Doenças	46
3.2 PRINCIPAIS INFESTANTES DO OLIVAL.....	53
3.2.1 Características da Avoadinha (<i>Conyza canadensis</i>).....	56
3.2.2 Germinação.....	58
3.3 ESTRATÉGIAS DE GESTÃO DAS INFESTANTES	60

4.	O GLIFOSATO	64
4.1	COMPORTAMENTO DA PLANTA E NO SOLO	65
4.1.1	Comportamento na Planta	65
4.1.2	Comportamento no Solo.....	66
4.2	MODO DE ACÇÃO	67
5.	RESISTÊNCIA ADQUIRIDA AOS HERBICIDAS.....	69
5.1	NOÇÕES GERAIS	69
5.2	RESISTÊNCIA CRUZADA, RESISTÊNCIA MÚLTIPLA E NÍVEL DE RESISTÊNCIA	70
5.3	PRINCIPAIS MECANISMOS DE RESISTÊNCIA ADQUIRIDA AO GLIFOSATO	72
5.4	PRINCIPAIS FACTORES RESPONSÁVEIS PELA OCORRÊNCIA DE BIÓTIPOS RESISTENTES	75
5.5	FACTOR RELACIONADO COM O HERBICIDA	77
5.6	FACTORES RELACIONADOS COM A INFESTANTE.....	79
5.7	SITUAÇÃO DA RESISTÊNCIA AOS HERBICIDAS A NÍVEL MUNDIAL ...	82
5.8	SITUAÇÃO ADQUIRIDA AOS HERBICIDAS EM PORTUGAL	85
5.9	MÉTODOS A PARAA CONFIRMAÇÃO DE RESISTÊNCIAS AOS HERBICIDAS	86
5.10	PRINCÍPIOS BÀSICOS DOS MÉTODOS DE CONFIRMAÇÃO DE RESISTÊNCIA	86
	PARTE II – Avaliação da Resistência ao Glifosato	100
1	INTRODUÇÃO	100
2	MATERIAL E MÉTODOS	101
2.1	MATERIAL VEGETAL	101
2.2	APLICAÇÃO.....	102

2.3	DESENVOLVIMENTO DAS PLANTAS	105
2.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS	106
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	107
3.1	ENSAIOS DE DOSE RESPOSTA AO GLIFOSATO	107
4	CONCLUSÕES.....	115
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	116
6	PERSPECTIVAS FUTURAS	120
7	BIBLIOGRAFIA.....	121
	ANEXOS	134

ÍNDICE DE FIGURAS

PARTE I

FIG. 2.1 – ÁREA COLHIDA EM PORTUGAL NO PERÍODO DE 2005-2009 ANOS	5
FIG. 2.2 - PRODUÇÃO DE AZEITE A PREÇOS BASE	7
FIG. 2.3 - PRODUÇÃO DE AZEITONA PARA AZEITE EM PORTUGAL	8
FIG. 2.4 - PRODUÇÃO DE AZEITE POR GRAUS DE ACIDEZ EM PORTUGAL	9
FIG. 2.5 - EXPORTAÇÕES PORTUGUESAS DE AZEITE (T)	10
FIG. 2.6 - IMPORTAÇÃO PORTUGUESAS DE AZEITE EM VALOR E QUANTIDADE	11
FIG. 2.7 - PRODUÇÃO DE AZEITE NA UNIÃO EUROPEIA (1000T)	12
FIG. 2.8 - PRODUÇÃO DE AZEITE NO MUNDO (1000T)	13
FIG. 2.9 - TOP 20 DOS PAÍSES DO MUNDO PRODUTORES DE AZEITONA	14
FIG. 2.10 - PRODUÇÃO DE AZEITONA NA EUROPA E NO MUNDO (1000T)	15
FIG. 2.11 - PRODUÇÃO DE AZEITE NA EUROPA E NO MUNDO (T)	16
FIG. 2.12 - ÁREA COLHIDA DE NA EUROPA E NO MUNDO (1000T)	17
FIG. 2.13 - ORIGEM E DISTRIBUIÇÃO INICIAL DO CULTIVO DO OLIVAL	18
FIG. 2.14 - ÁREAS DO MUNDO COM CLIMA MEDITERRÂNEO	20
FIG. 2.15 - VARIEDADE GALEGA VULGAR.....	21
FIG. 2.16 - VARIEDADE GALEGA GRADA DE SERPA.....	22
FIG. 2.17 - VARIEDADE VERDEAL DE SERPA.....	23
FIG. 2.18 - VARIEDADE CORDOVIL DE SERPA	24
FIG. 2.19 - VARIEDADE AZEITEIRA	25
FIG. 2.20 - VARIEDADE CARRASQUENHA	26
FIG. 2.21 - VARIEDADE CONSERVA DE ELVAS.....	27
FIG. 2.22 - VARIEDADE COBRANÇOSA.....	28
FIG. 2.23 - VARIEDADE BLANQUETA	29
FIG. 2.24 - VARIEDADE PICUAL	30
FIG. 2.25 - VARIEDADE ARBEQUINA.....	31
FIG. 3.1 - MOSCA DA AZEITONA	36
FIG. 3.2 - ESTRAGOS DAS LARVAS DA MOSCA NO FRUTO	36

FIG. 3.3 - TRAÇA DA OLIVEIRA (ADULTO)	37
FIG. 3.4 - CICLO BIOLÓGICO DA <i>PRAYS OLEAE</i>	38
FIG. 3.5 - ESTRAGOS DA TRAÇA DA OLIVEIRA (LARVA) NOS BOTÕES FLORAIS (GERAÇÃO ANTÓFAGA)	39
FIG. 3.6 - <i>PALPITA UNIONALIS</i> (MARGARONIA)	40
FIG. 3.7 - EUZOFERA (<i>EUZOPHERA PINGUIS</i>)	41
FIG. 3.8 - CICLO BIOLÓGICO DA <i>EUZOPHERA PINGUIS</i>	42
FIG. 3.9 - COCHONILHA NEGRA (<i>SAICETIA OLEAE</i>).....	43
FIG. 3.10 - CICLO BIOLÓGICO DA <i>SAICETIA OLEAE</i>	44
FIG. 3.11 - <i>CHILOCORUS BIPUSTULATU</i> L.; (LARVA).....	45
FIG. 3.12 - CICLO DE VIDA GAFA (<i>COLLETOTRICHUM GLOESPOROIDES</i>)	46
FIG. 3.13 - CICLO DE VIDA DO OLHO DE PAVÃO (<i>SPILOCEA OLEAGINA</i>).....	48
FIG. 3.14 - EFEITOS DA VERTICULOSE (<i>VERTICILLIUM DAHLIA</i>) NUMA OLIVEIRA	51
FIG. 3.15 - EFEITOS DA VERTICULOSE TUBERCULOSE (<i>PSEUDOMONA SAVASTANOI</i>) NUM RAMO DE OLIVEIRA	52
FIG. 3.16 - PORMENOR DUMA POPULAÇÃO DE <i>CONYZA SPP.</i> NA LINHA DE UM OLIVAL.....	55
FIG. 3.17 - - <i>CONYZA CANADENSIS</i> ; (A) PLANTA ADULTA; (B) RAIZ APRUMADA; (C) PLÂNTULA COM COTILÉDONES E DUAS FOLHAS VERDADEIRAS; (D) FLOR; (E) SEMENTE COM PAPILHO (FRANKTON AND MULLIGAN, 1987).....	56
FIG. 4.1 - MAPA DE HERBICIDAS (DE ACORDO COM A CLASSIFICAÇÃO HRAC) (HRAC, 2010)	64
FIG. 5.1 - - IMAGENS DEMONSTRANDO O MOVIMENTO DO [14C] GLIFOSATO EM PLANTAS DE <i>C.</i> <i>SUMATRENSIS</i> (A), <i>C. BONARIENSIS</i> (B) E <i>C. CANADENSIS</i> . AS IMAGENS FORAM CAPTURADAS 96H APÓS O TRATAMENTO, A COLORAÇÃO A VERMELHO INDICA MAIORES CONCENTRAÇÕES DE GLIFOSATO. AS SETAS APONTAM O LUGAR ONDE INCIDIU O TRATAMENTO. (TORRALVA, G. ET AL., 2010).....	73
FIG. 5.2 - CICLO DO CHIQUIMATO.....	74
FIG. 5.3 - REPRESENTAÇÃO MUNDIAL DE PAÍSES COM BIÓTIPOS RESISTENTES AO GLIFOSATO	84
FIG. 5.4 - CURVA DE DOSE RESPOSTA PARA POPULAÇÕES SUSCEPTÍVEIS (S) E RESISTENTES (R) (HRAC GLOBAL, 2011)	91

PARTE II

FIG. 1.1 - ASPECTO DO INTERIOR DA ESTUFA ONDE DECORRERAM OS ENSAIOS (DRA. ISABEL CALHA, 2011).....	100
FIG. 2.1 - GERMINAÇÃO, EMERGÊNCIA E PLÂNTULAS DE <i>CONYZA SPP.</i> PRONTAS PARA O TRANSPLANTE (DRA. ISABEL CALHA, 2011).....	101
FIG. 2.2 - PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES NO LABORATÓRIO DA INIA/INRB	103
FIG. 2.3 - APLICAÇÃO COM UM PULVERIZADOR DE JACTO OXFORD PRECISION SPRAYER (OPS)	104
FIG. 3.1 - CURVAS DE DOSE RESPOSTA (COM O INTERVALO DE CONFIANÇA) DE TRÊS POPULAÇÕES DE <i>C CANADENSIS</i> , POPULAÇÃO SUSCEPTÍVEL (S) E POPULAÇÕES RESISTENTES (B3 E C)	108
FIG. 3.2 - CURVAS DE DOSE RESPOSTA DE TRÊS POPULAÇÕES DE <i>C CANADENSIS</i> , POPULAÇÃO S, B3 E C	109
FIG. 3.3 - CURVAS DE DOSE RESPOSTA DE TRÊS POPULAÇÕES DE <i>C CANADENSIS</i> , POPULAÇÃO SUSCEPTÍVEL (S) E POPULAÇÕES RESISTENTES (B3 E C).....	110
FIG. 3.4 - GRADIENTE DE RESPOSTA À DOSE DE GLIFOSATO NA POPULAÇÃO S APÓS 21 DIAS	112
FIG. 3.5 - GRADIENTE DE RESPOSTA À DOSE DE GLIFOSATO NA POPULAÇÃO B3 APÓS 21 DIAS	113
FIG. 3.6 - GRADIENTE DE RESPOSTA À DOSE DE GLIFOSATO NA POPULAÇÃO C APÓS 21 DIAS	114

ÍNDICE DE QUADROS

PARTE I

QUADRO 2.1 - ÁREA DE OLIVAL PLANTADO NO ALENTEJO	6
QUADRO 3.1 - EVOLUÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DAS DEFINIÇÕES ADOPTADAS PELA OILB/SROP.....	33
QUADRO 3.2 - - EXIGÊNCIAS E RECOMENDAÇÕES RELATIVAS À PROTECÇÃO INTEGRADA, ESTRATÉGIA BÁSICA A ADOPTAREM CONTRA OS INIMIGOS DAS CULTURAS EM PRODUÇÃO INTEGRADA, E EM QUE OS PROBLEMAS DEVEM SER PREVENIDOS POR MECANISMOS DE REGULAÇÃO NATURAL, DE ACORDO COM A DIRECTIVA II.....	34
QUADRO 3.3 - IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DO GÉNERO CONYSA LESS. EM PORTUGAL	57
QUADRO 3.4 - SUBSTÂNCIAS ACTIVAS AUTORIZADAS EM PRODUÇÃO INTEGRADA NO OLIVAL	63
QUADRO 5.1 - PRINCIPAIS FACTORES QUE AFECTAM A EVOLUÇÃO DA RESISTÊNCIA DE INFESTANTES A HERBICIDAS	76
QUADRO 5.2 - ESPÉCIES RESISTENTES AO GLIFOSATO E ANO EM QUE FORAM IDENTIFICADAS	83

PARTE II

QUADRO 2.1 - MATERIAL VEGETAL UTILIZADO NO ENSAIO DEFINITIVO	101
QUADRO 2.2 - HERBICIDA UTILIZADO NO ENSAIO DE DOSE-RESPOSTA.....	102
QUADRO 2.3 - PREPARAÇÃO DAS SOLUÇÕES NUM VOLUME DE 100ML.....	103
QUADRO 2.4 - CALIBRAÇÃO DO EQUIPAMENTO OPS	104
QUADRO 2.5 - CRONOGRAMA DOS ENSAIOS DE DOSE-RESPOSTA A HERBICIDAS	105
QUADRO 3.1 - MÉDIA DO PESO VERDE (G) DAS TRÊS POPULAÇÕES DE C CANADENSIS.....	107
QUADRO 3.2 - SINTOMAS DE FITO TOXIDADE PROVOCADOS PELO GLIFOSATO, EM TRÊS POPULAÇÕES DE C CANADENSIS (EXPRESSOS EM % DE ÁREA FOLIAR AFECTADA)	107
QUADRO 3.3 - ESTIMATIVA DO VALOR DE ED50 PARA AS POPULAÇÕES S, B3 E C DE C CANADENSIS.	111

RESUMO

A resistência adquirida a herbicidas é um problema agrícola grave com que o agricultor se depara nos anos mais recentes. Esta situação compromete a eficácia do herbicida que é aplicado, podendo também pôr em causa a utilização de outros herbicidas com o mesmo modo de acção, ou até com modos de acção diferentes, fenómeno que se designa por resistência cruzada.

Recentemente em olivais do Alentejo, tratados repetidamente ao longo de anos sucessivos com herbicidas contendo a substância activa glifosato, foi observado a existência biótipos de *Conyza canadensis* L. (avoadinha) resistentes a este herbicida.

Neste trabalho apresentam-se os resultados de testes para a avaliação de resistência ao glifosato em três populações de *C. canadensis*, colhidas em outros tantos olivais distintos localizados no Distrito de Beja. Foram realizados ensaios biológicos do tipo dose-resposta com a obtenção das respectivas curvas, assim como foram determinados os valores dos Níveis de Resistência (NR). Os resultados mostraram a existência duas populações resistentes com valores de NR de 7.95 e 7.2, tendo a população susceptível um NR de 1.

Chave: Olival; herbicidas; ensaios dose-resposta

ABSTRACT

The acquired resistance to herbicides is a serious agricultural problem that farmers faced in recent years. This diminishes the effectiveness of the herbicide applied, and may jeopardize the use of other herbicides with the same mode of action, or even with different modes of action, a phenomenon known as cross-resistance.

Recently in olive orchard of the Alentejo, treated repeatedly over consecutive years with herbicides containing the active ingredient glyphosate, has been observed that there biotypes of *Conyza canadensis* L. (avoadinha) resistant to this herbicide.

This paper presents the results of tests for the evaluation of glyphosate resistance on three populations of *C. canadensis*, collected from as many different olive orchards located in the District of Beja. Biological assays were carried out dose-response with the completion of certain curves, as were the values of certain levels of resistance (NR). The results showed the existence of two resistant populations with values of 7.95 and 7.2 of NR, and a likely susceptible population with NR 1.

Key: Olive orchard; herbicide dose-response trials

INTRODUÇÃO

Este trabalho centra-se em três pontos-chave: primeiro, o Olival; segundo, as infestantes com destaque para a espécie *Conyza canadensis* e terceiro, o fenómeno da resistência.

A cultura do olival tem vindo a ganhar uma grande importância nestes últimos 25 anos, não só a nível económico, bem como a nível social; isto por dar origem à gordura vegetal mais saudável que se conhece, o Azeite.

Estima-se que 98% do património olivícola mundial se concentra na bacia mediterrânica ocupando uma superfície de 9,5 milhões de hectares (Civantos, 2005), “falar por isso de olivicultura mundial é falar do olival mediterrânico” (Monteiro, 1999).

Em nenhuma altura passada, este produto de excelência teve tanta importância como a que observa nos dias de hoje, prova disso é o número de especialistas, técnicos ou meramente curiosos, que se dedicam à demanda para o aperfeiçoamento da arte de laborar “bom Azeite”. É por estas razões, que a referência da cultura do olival neste trabalho é de carácter obrigatório.

As infestantes do olival, constituem um aspecto importante, na maneira como se conduz um Olival. Neste trabalho, essa importância estará voltada para a infestante *C. canadensis*, considerada uma das infestantes mais prejudiciais a nível mundial e nacional.

O fenómeno da resistência, é um conceito que Heap (1997) explicou do seguinte modo, “A aplicação repetida do mesmo herbicida ou de herbicidas com o mesmo modo de acção, durante vários anos, nos mesmos solos, pode conduzir ao desenvolvimento de biótipos resistentes em espécies até então susceptíveis a esse herbicida”.

Os objectivos deste trabalho centraram-se na detecção de resistência adquirida ao glifosato da espécie *C. canadensis* em olivais no Alentejo e mostrar a importância do papel da Produção Integrada, como parte da solução aos problemas apresentados nesta matéria.

O trabalho encontra-se dividido em três partes. A primeira parte centra-se na revisão bibliográfica; a segunda e terceira parte englobam a componente experimental de ensaios preliminares de germinação e ensaios de dose resposta (respectivamente); onde são descritos os ensaios efectuados em ordem a cumprir com os objectivos traçados.

No final de cada parte são extraídas as conclusões mediante os resultados obtidos e tendo como base a bibliografia consultada.

PARTE I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 INTRODUÇÃO

Nesta primeira parte do trabalho, procedeu-se à revisão bibliográfica, ao qual incide sobre a cultura do Olival passando pela Produção Integrada; continuando na temática das infestantes do Olival e passando pelas estratégias de gestão das infestantes. Esta primeira parte termina com uma abordagem ao estudo do herbicida glifosato e da resistência adquirida aos herbicidas.

2. ORIGEM E IMPORTÂNCIA A NÍVEL MUNDIAL E NACIONAL DO OLIVAL

2.1 DADOS ESTATÍSTICOS

Áreas

Nos últimos anos a olivicultura tem vindo a ganhar uma grande importância em Portugal devido ao facto do azeite, ter vindo a ganhar grande apreciação no mercado nacional e internacional.

Um dos parâmetros que demonstra esta importância é a área colhida, que tem vindo a aumentar ao longo dos anos, tendo mais recentemente estabilizado como indicado na Fig. 2.1.

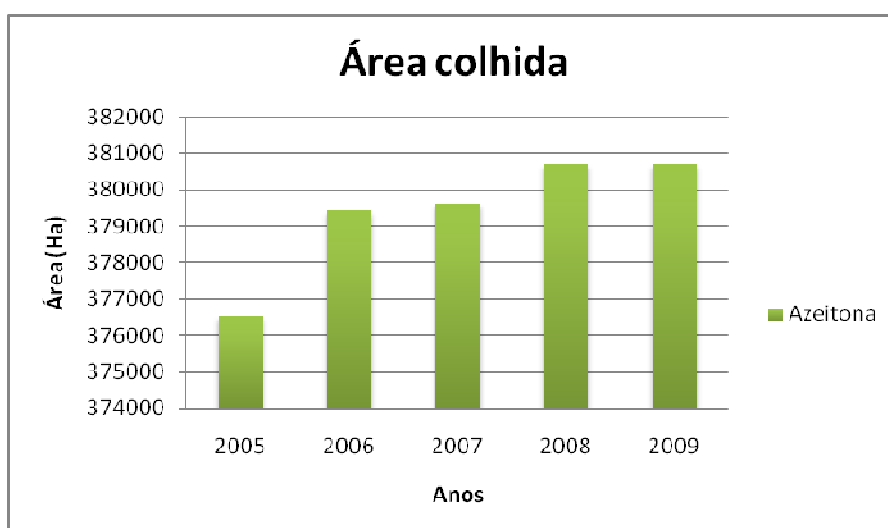


Fig. 2.1 – Área Colhida em Portugal no período de 2005-2009 anos

Fonte: FAOSTAT

No Alentejo a área de olival plantado não só tem vindo a aumentar como também existe a intenção de incrementar essa área. Neste momento o concelho de Serpa é que apresenta maior área de olival plantado (22.336,69 ha), sendo que Ferreira do Alentejo destaca-se por ser o concelho que apresenta uma maior intenção para a plantação de mais olival estimando-se que este aumento seja de 2.150,37 ha (Quadro 2.1).

Quadro 2.1 - Área de Olival plantado no Alentejo

ÁREA DE OLIVAL (até 31/12/2009)		
Concelho	Olival Total (ha)	Intenção de Plantar (ha)
Alandroal	2.731,45	8,29
Alcácer do Sal	2.812,17	49,53
Aljustrel	1.691,64	569,97
Almodôvar	571,31	0,00
Alter do Chão	3.476,83	108,29
Alvito	1.732,03	153,59
Arraiolos	1.307,56	0,00
Arronches	1.906,69	0,00
Avis	4.973,93	696,72
Barrancos	909,60	0,00
Beja	9.862,53	894,99
Borba	1.218,40	20,23
Campo Maior	5.191,37	529,55
Castelo de Vide	1.525,67	0,00
Castro Verde	764,21	0,00
Crato	2.526,90	0,00
Cuba	1.572,09	0,00
Elvas	6.186,04	161,94
Estremoz	4.774,09	46,80
Évora	3.978,55	259,85
Ferreira do Alentejo	5.865,96	2.150,37
Fronteira	3.324,37	136,69
Gavião	2.164,18	0,00
Grândola	760,07	62,79
Marvão	1.621,27	0,00
Mértola	848,38	0,00
Monforte	1.865,39	0,00
Montemor	2.760,40	0,00
Mora	1.255,83	0,00
Moura	17.996,69	1.253,25
Mourão	1.935,18	1.037,16
Nisa	4.969,52	0,00
Odemira	1.201,23	10,43
Ourique	591,15	0,00
Ponte de Sôr	2.566,16	0,00
Portalegre	4.298,29	8,68
Portel	3.963,35	204,88
Redondo	3.259,53	117,16
Reguengos de Monsaraz	2.419,97	125,98
Santiago do Cacém	2.193,28	85,09
Serpa	22.336,69	1.364,12
Sines	8,88	0,00
Sousel	5.014,13	166,19
Vendas Novas	123,16	0,00
Viana do Alentejo	1.503,48	136,52
Vidigueira	4.168,18	535,33
Vila Viçosa	1.186,83	142,55
Total	159.914,56	11.036,94

Fonte: DRAP, 2009

Produção

Nas Contas Económicas Agrícolas (CEA), a análise da produção de Azeite é feita com dados relativos ao ano civil, não sendo coincidente com as campanhas oleícolas. A evolução desta produção, em termos de volume, foi crescente entre 1980 e 2009, sendo mais pronunciada nos anos após a adesão à Comunidade Económica Europeia (CEE), designadamente após 2006, sendo 2009 o ano que registou a produção mais elevada (Fig. 2.2).

Deve referir-se, contudo, a existência de um declínio deste produto no final dos anos 90, dado o envelhecimento dos olivais tradicionais e a consequente redução de azeitona de qualidade.

Em consequência do aumento de azeitona, já referido, o azeite produzido em 2009 (por produtores individuais) aumentou significativamente em volume (+98,8 %) face ao ano anterior, em resultado das boas condições do estado do tempo mas, fundamentalmente, dos novos olivais terem entrado em produção.

Como resultado da oferta abundante, o preço desceu acentuadamente (-19,2 %). (Fonte: CEA, 2009)



Fig. 2.2 - Produção de Azeite a Preços base

Fonte: CEA, 2009

Produção de Azeitona para Azeite em Portugal

Em Portugal, tem-se assistido nos últimos anos a aumentos e decréscimos na produção de azeitona para azeite (Fig. 2.3), sendo que a partir de 2007, verifica-se um aumento significativo, tanto da azeitona produzida para azeite bem como o azeite obtido. Isto é um indicador de que tem havido uma forte aposta neste sector agrícola nos últimos quatro anos.

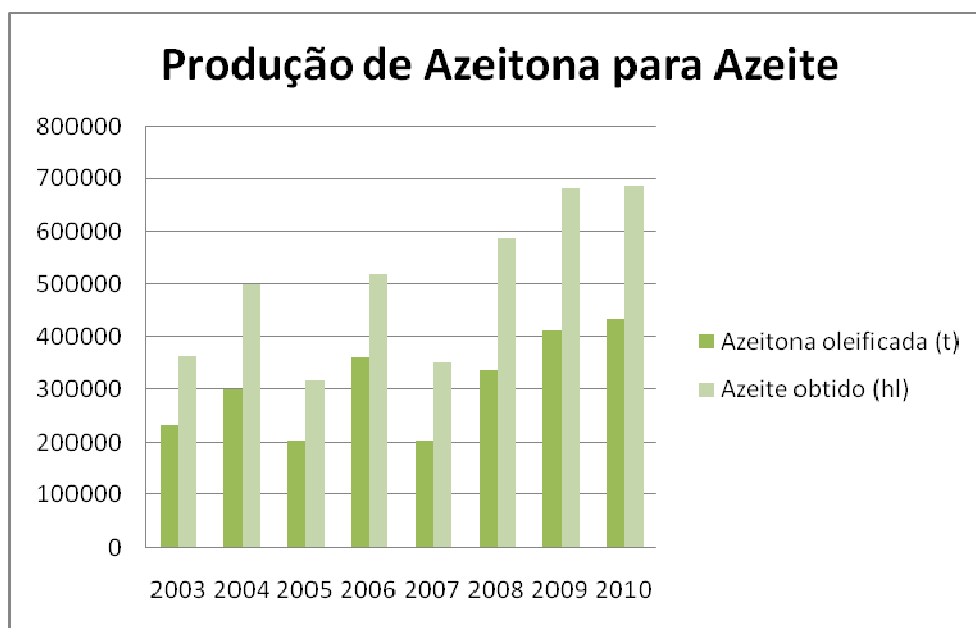


Fig. 2.3 - Produção de Azeitona para Azeite em Portugal

Fonte: FAOSTAT, 2011

Produção de Azeite por grau de acidez em Portugal

Em relação à Produção de Azeite por graus de acidez (Fig. 2.4), e tendo como referência o figura 4, o azeite produzido com grau de acidez inferior a $0,8^{\circ}$ tem vindo a aumentar (mais significativamente entre 2007 e 2008) sendo que por outro lado, o azeite com grau de acidez superior a 2° tem vindo a diminuir a partir 2006. Isto é um claro indicador da importância que está a ser dada à questão da qualidade do azeite, tanto no processo de produção, colheita e transformação (processos e maquinaria mais avançados)

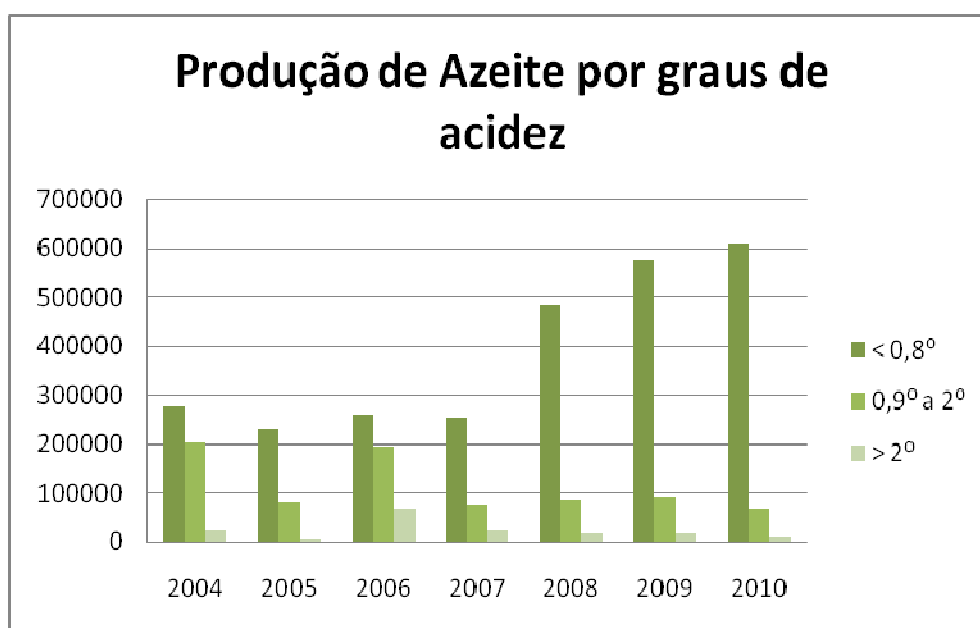


Fig. 2.4 - Produção de Azeite por graus de acidez em Portugal

Fonte: FAOSTAT, 2011

Exportação

Ao nível das trocas internacionais, que se situam actualmente a níveis próximos das 707 mil toneladas, os principais países exportadores são, naturalmente, os principais produtores.

Na média das três últimas três campanhas a União Europeia, com 62 %, e a Tunísia, com 17 %, foram os principais países exportadores a nível mundial. Entre os principais importadores encontramos os países considerados novos consumidores de azeite, que no seu conjunto foram responsáveis por cerca de 63 % das importações mundiais, são eles: os Estados Unidos (39,7 %); o Brasil (7,4 %); a Austrália (4,6 %); o Canadá (5,3 %) e o Japão (5,7 %).

Portugal é, tradicionalmente, um país com vocação exportadora

Entre os mercados de destino das exportações nacionais (Fig. 2.5), destaca-se o mercado brasileiro que absorve cerca de 65 % do total das exportações nacionais, fazendo com que este produto seja igualmente o produto português mais exportado para aquele país (casa do azeite, 2010).

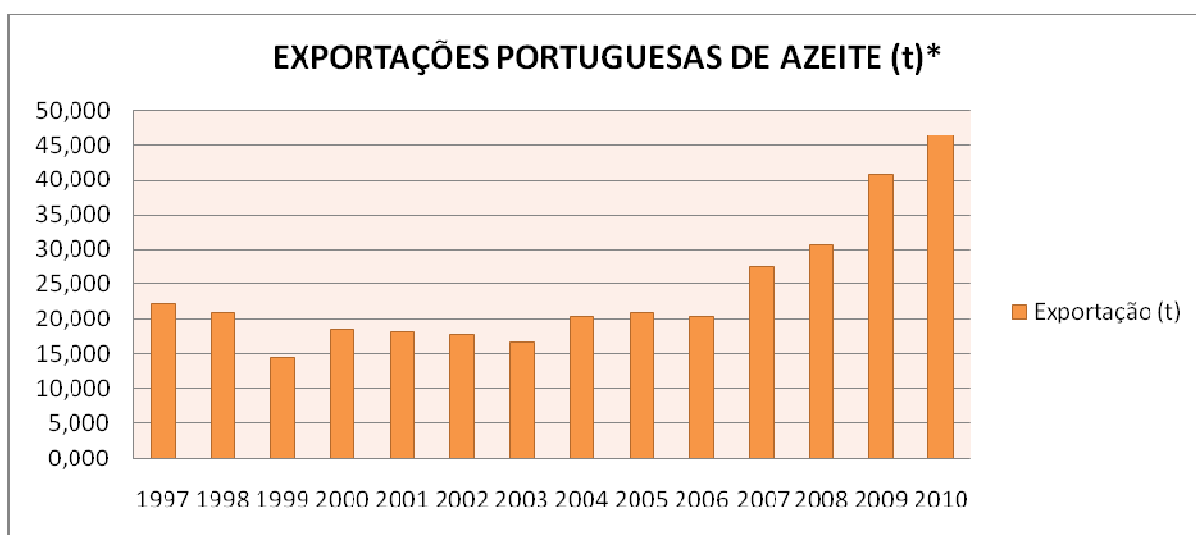


Fig. 2.5 - Exportações Portuguesas de Azeite (t)

Fonte: Casa do azeite, 2010

Importação

Nos últimos anos verifica-se que o nível de Importações a nível nacional (Fig. 2.6) tem vindo a aumentar (tanto em quantidade como em preço) até 2006, sendo que a partir desse período e até 2007, observou-se a um aumento da quantidade importada com uma diminuição do valor de azeite importado. Do ano 2007 para 2008 verificou-se uma diminuição, uma tendência contrária, ou seja, uma diminuição da quantidade para um aumento do valor importado). No ano seguinte (2009) essa tendência manteve-se, o que pode ser interpretado como uma aposta na compra de azeite com qualidade.

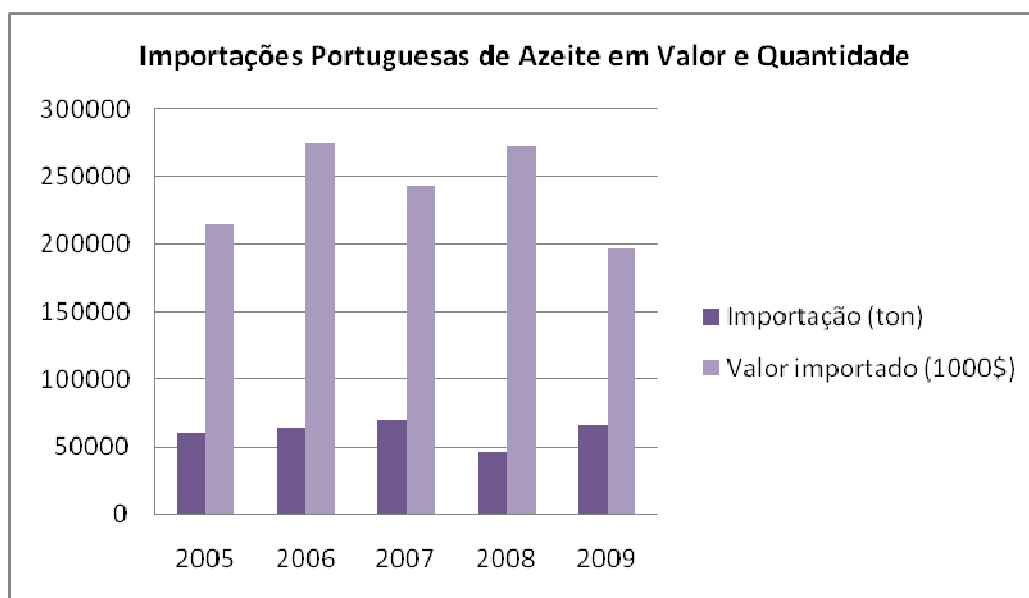


Fig. 2.6 - Importação Portuguesa de Azeite em valor e Quantidade

Fonte: FAOSTAT, 2011

Produção europeia

A produção de azeite a nível mundial está limitada, por questões edafo – climáticas, a duas zonas do globo que se situam entre os paralelos 30° e 45° dos hemisférios norte e sul.

Actualmente, cerca de 95 % da superfície oleícola mundial está concentrada na Bacia Mediterrânica, sendo que os países produtores da União Europeia (Espanha, Itália, França, Grécia e Portugal) são responsáveis por 76 % da produção a nível mundial (Fig. 2.7).

Os outros principais países produtores são a Tunísia (4,6 %), a Turquia (5,0 %), a Síria (5,5 %), Marrocos (2,8 %) e a Argélia (1,4 %). (Casa do azeite, 2010)

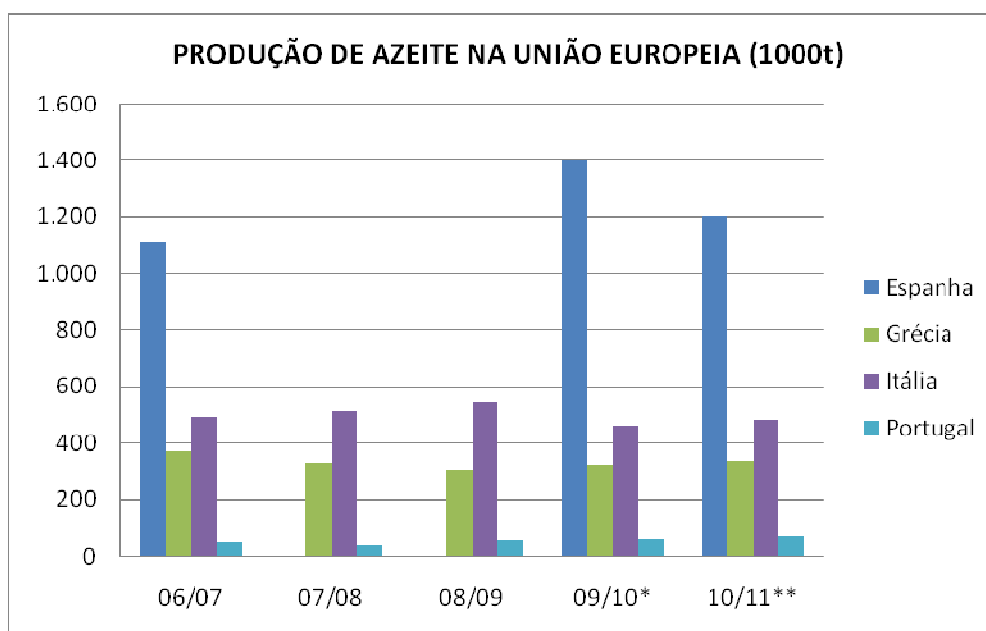


Fig. 2.7 - Produção de Azeite na União Europeia (1000t)

Fonte: Casa do azeite, 2011

Produção mundial

Analisando a produção mundial referente às 19 últimas campanhas, pode verificar-se uma taxa de crescimento média de 2.5 %, ao longo deste período (Fig. 2.8).

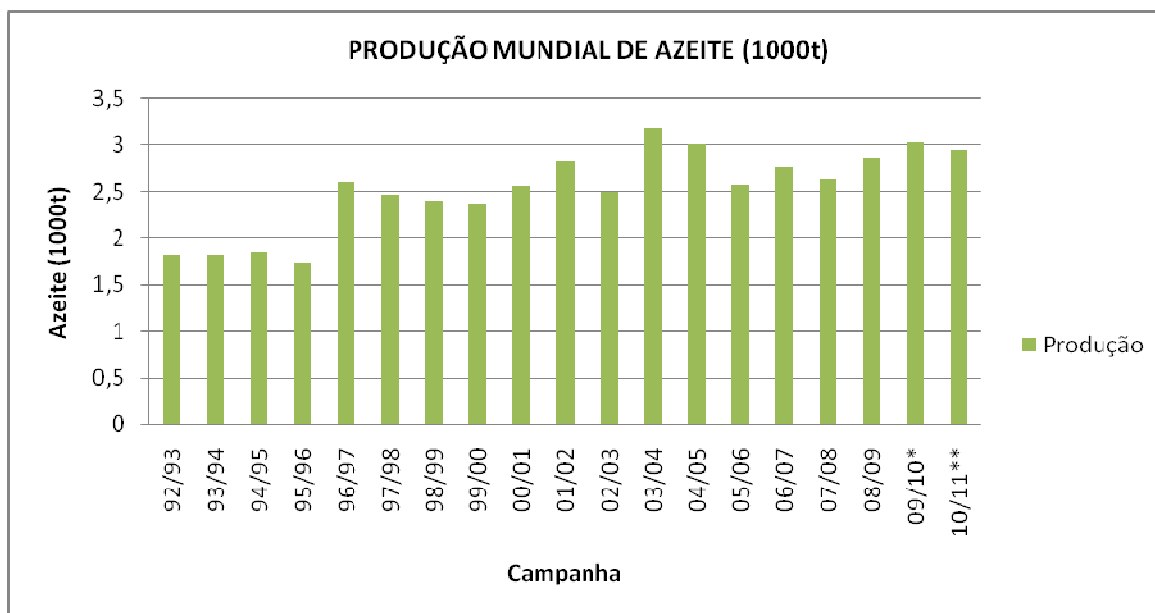
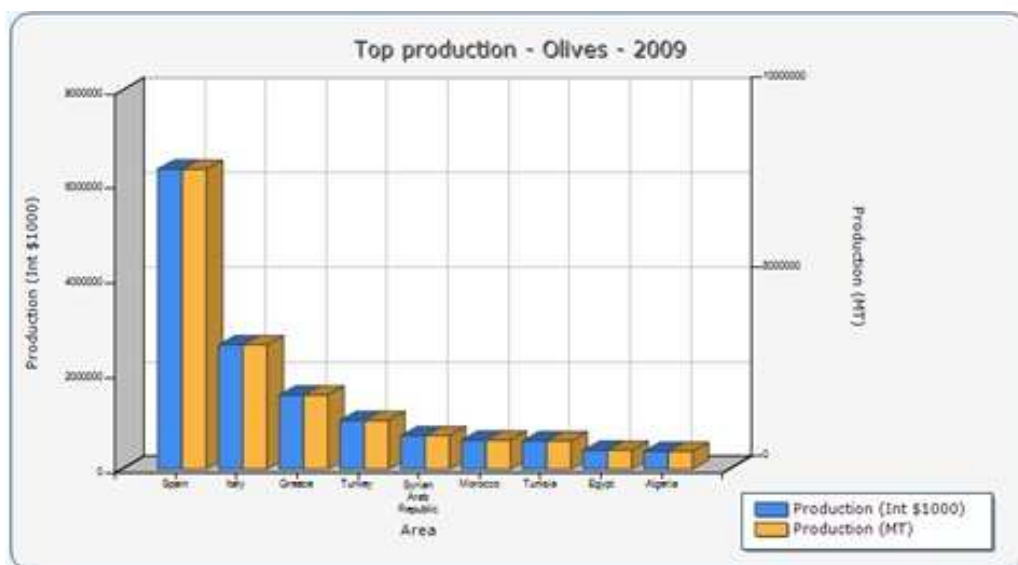


Fig. 2.8 - Produção de Azeite no Mundo (1000t)

Fonte: Casa do Azeite, 2010

Ao nível da União Europeia a produção de azeitona tem vindo a crescer significativamente nos últimos anos, sendo que Espanha ocupa actualmente o 1º lugar no ranking mundial dos países produtores (dados de 2009), seguida da Itália (2º lugar) e Grécia (3º lugar) ocupando Portugal o 10º lugar deste ranking (Fig. 2.9).



Rank	Area	Production (Int \$1000)	Flag	Production (MT)
1	Spain	6343969	*	7923000
2	Italy	2631590	*	3286600
3	Greece	1571932	*	1963190
4	Turkey	1033427	*	1290650
5	Syrian Arab Republic	709376	*	885942
6	Morocco	616541	*	770000
7	Tunisia	600527	*	750000
8	Egypt	400351	*	500000
9	Algeria	380479	*	475182
10	Portugal	290334	*	362600
11	Libya	136828	*	170886
12	Argentina	128112	*	160000
13	Jordan	112674	*	140719
14	Lebanon	66858	*	83500
15	Occupied Palestinian Territory	65198	*	81427
16	Australia	50168	*	62655
17	Chile	43237	*	54000
18	Albania	38433	*	48000
19	Peru	37564	*	46914
20	Iran (Islamic Republic of)	32048	*	40025

Fig. 2.9 - Top 20 dos Países do Mundo produtores de Azeitona

Fonte: FAOSTAT, 2011

2.1.1 Produção europeia e mundial (azeitona)

No período de 2005 a 2009 a produção Europeia e Mundial de Azeitona teve (Fig. 2.10) a seguinte evolução:

- Nos anos de 2005 e 2006 observou-se um aumento da produção de azeitona (na Europa e no Mundo), com uma relativa estabilização. Em 2007 e 2008.
- O ano com maior produção foi o de 2009 com uma produção Europeia estimada em 13.666.543,00 toneladas e a nível mundial, no mesmo ano, observou-se o valor de 19.302.675,00 toneladas.



Fig. 2.10 - Produção de Azeitona na Europa e no Mundo (1000t)

Fonte: FAOSTAT, 2011

Produção europeia e mundial (azeite)

No período de 2005 a 2009 a produção Europeia e Mundial de Azeite teve (Fig. 2.11) a seguinte evolução:

- Nos anos de 2005 e 2006 observou-se um aumento da produção de azeite (na Europa e no Mundo), com uma diminuição em 2007 e 2008 (mais acentuada).
- O ano com maior produção foi o de 2009 com uma produção Europeia estimada em 2.188.289,00 toneladas e a nível mundial, no mesmo ano, observou-se o valor de 2.991.115,00 toneladas.

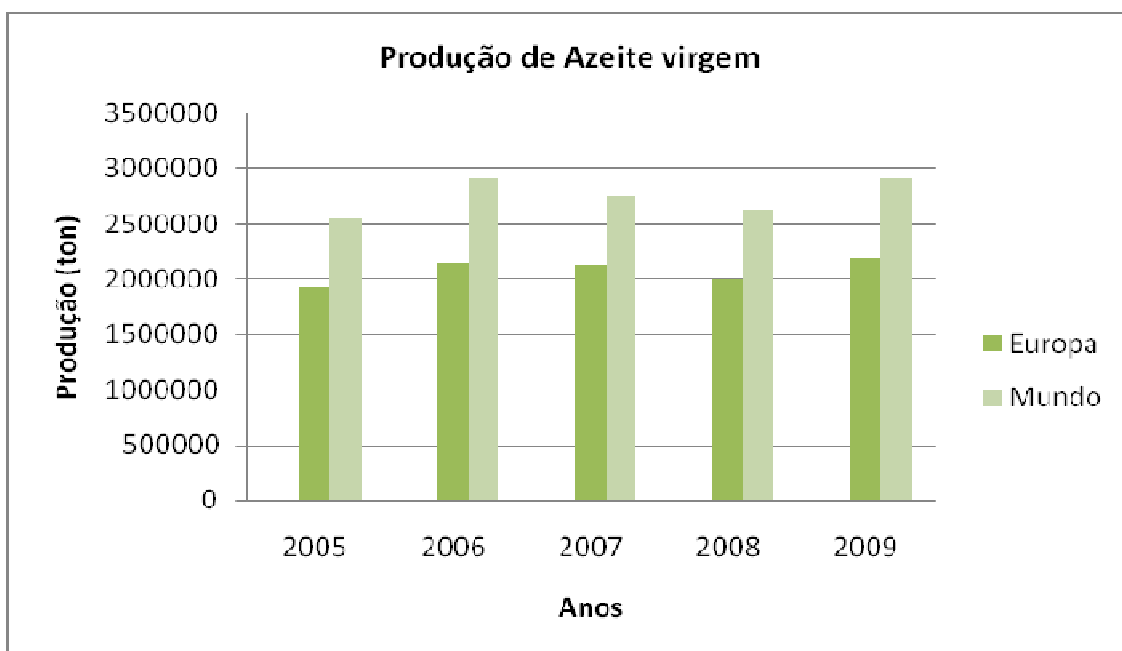


Fig. 2.11 - Produção de Azeite na Europa e no Mundo (t)

Fonte: FAOSTAT, 2011

Área colhida na Europa e no mundo (azeitona)

No período de 2005 a 2009 a Área de Olival plantada a nível Europeu e Mundial teve a seguinte evolução (Fig. 2.12):

- Nos anos últimos 5 anos verificou-se uma relativa estabilização nos valores referentes à área colhida a nível Europeu, enquanto no mesmo período, e a nível mundial, essa tendência tem sido inconstante, apresentando anos (2006 e 2008) com área colhida superior aos restantes anos (2005, 2007 e 2009) que constam neste período.
- O ano com maior área colhida a nível Europeu foi o de 2006, estimado em 4.862.411,00 ha; sendo que a nível mundial, no ano de 2008, observou-se o valor de 10.045.292,00 ha.

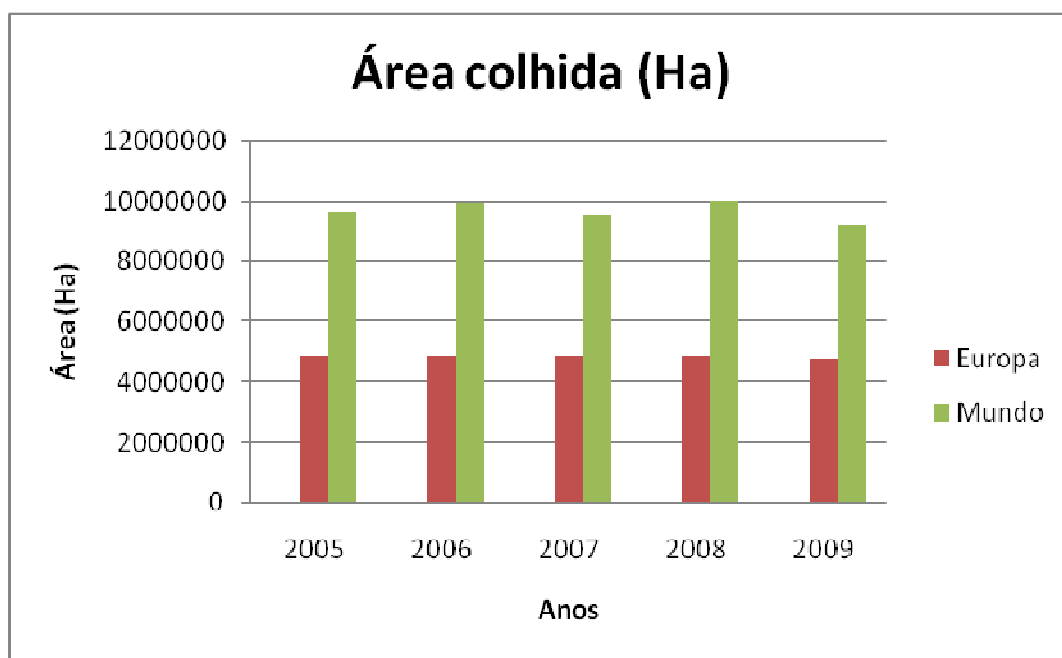


Fig. 2.12 - Área colhida de na Europa e no Mundo (1000t)

Fonte: FAOSTAT, 2011

Nutrição

A falta ou excesso de um elemento nutritivo pode influenciar o estado vegetativo e produtivo dos olivais.

A cultura do olival é muito sensível à carência de potássio e boro. A carência em Potássio chega a influenciar negativamente a colheita, e diminui a resistência à seca e ao frio e a carência de boro leva a uma queda de frutos no Verão. (“Guia do Olival, Syngenta”, 2008)

Clima

Os valores limites para o cultivo da oliveira são: -7°C e 200mm (2000 m³/ha)!

As condições ideais para o cultivo de oliveiras são Invernos suaves sem geadas, Verões longos e quentes e com precipitações totais anuais altas (característicos do clima Mediterrâneo (Fig. 2.14)

Em termos de temperatura, as mais limitantes para a oliveira são (Regato M., 2003):

- 0°C a -5 °C => Pequenas feridas nos rebentos e ramos novos
- -5°C a -10°C => Maiores estragos em rebentos e ramos novos
- <-10°C => Morte dos ramos grandes ou até toda a parte aérea e redução da produção e da qualidade do fruto.
- Ligeiramente abaixo dos 0°C => Formação incompleta da flor (Regato M., 2003)

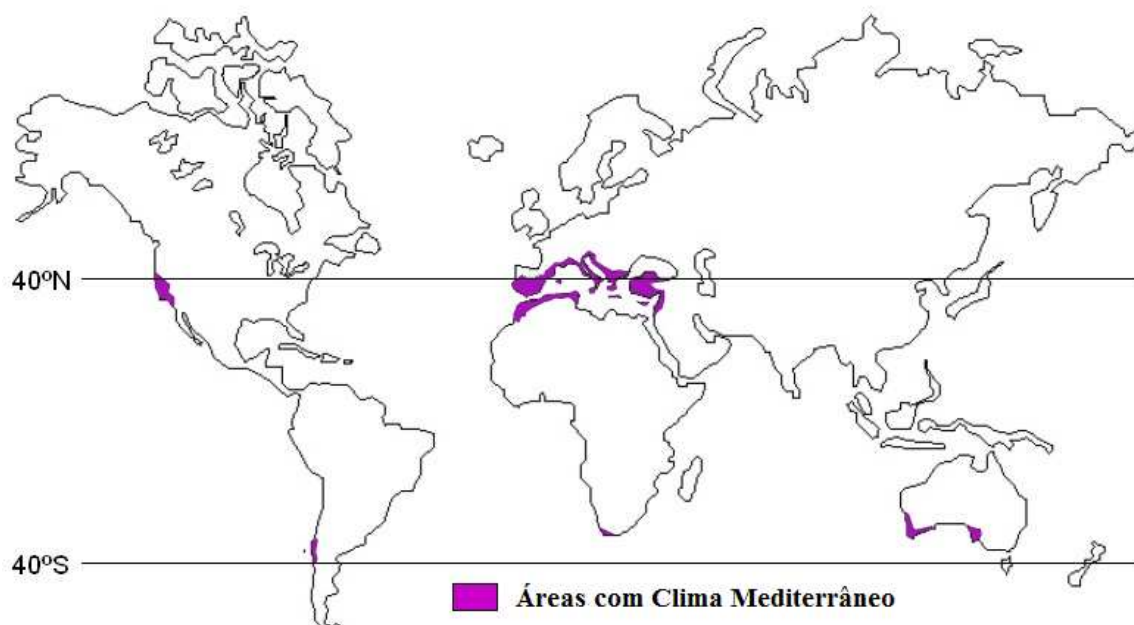


Fig. 2.14 - Áreas do Mundo com clima mediterrâneo

Fonte: Wikipédia, 2011

Sistemas de condução

Tendo em atenção a necessidade de mecanizar as operações culturais, bem como a optimização das condições de iluminação e arejamento das copas das árvores, o compasso a adoptar dependerá do vigor da cultivar, do estado de fertilidade do solo e da disponibilidade de água (DGADRE e INRB, 2009)

Os compassos mais utilizados nos diferentes sistemas de condução são:

- Olival Intensivo - Aconselha-se os compassos que conduzam a uma densidade de 200-340 árvores/ha; expo: compasso de 7×7 m; 7×6 m; 8×5 m; 7×5 m; 6m x 5m;
 - Olival Super intensivo - Aconselha-se os compassos que conduzam a uma densidade de 1111 a 2053 árvores/ha; expo: compasso de 3.75 x 1,3 – 2m; 4 x 1,35 m
 - Olival Tradicional - compasso de 12 x 12 m
- (Fonte: Hernández *et al.*, 2009)

2.3 VARIEDADES PORTUGUESAS

Galega vulgar

Esta variedade dispersa-se por todo o país, predominantemente no Alentejo, Beira Interior e Ribatejo-Oeste; caracterizando-se por apresentar árvores de grande porte é um bom porta enxerto, tem grande rusticidade, tolerante à secura e suporta bem terrenos húmidos.

O fruto é pequeno (1 a 2,5 gr) com fraco rendimento em azeite (14 a 19 %); sendo uma azeitona de dupla aptidão (azeite/conserva). Apresenta uma ligeira tendência para a alternância de produção e uma resistência do fruto ao desprendimento, mas queda acentuada no final da maturação;

Esta variedade (Fig. 2.15) é muito susceptível à Mosca da Azeitona, Gafa e Tuberculose. (DGADRE e INRB, 2009))



Fig. 2.15 - Variedade Galega Vulgar

Fonte: DGADRE e INRB, 2009

Galega grada de Serpa

As árvores desta variedade (Fig. 2.16) apresentam um porte pequeno a médio e uma produtividade regular.

O fruto é pequeno de forma ovóide (2 a 3 gr) de fácil desprendimento e com um rendimento médio em azeite (15 a 20 %).

É uma variedade resistente à Mosca da Azeitona e Tuberculose. (DGADRE e INRB, 2009)

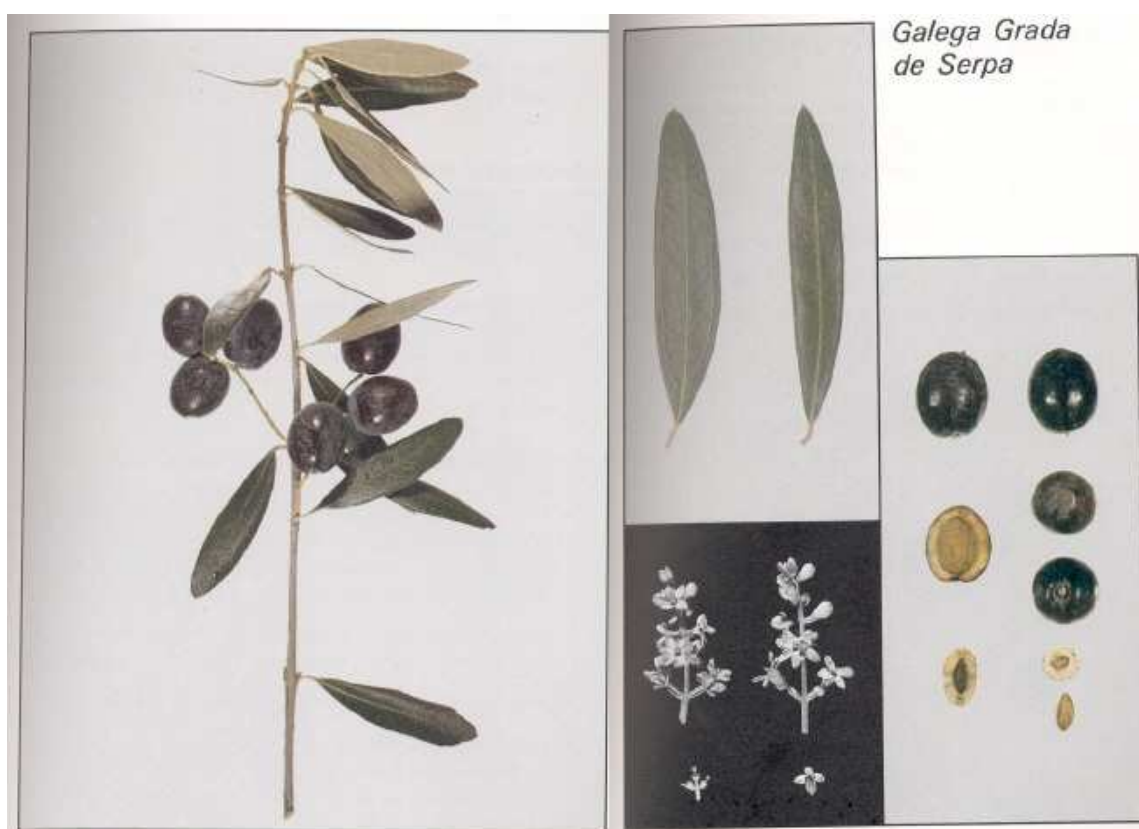


Fig. 2.16 - Variedade Galega Grada de Serpa

Fonte: DGADRE e INRB, 2009

Verdeal de Serpa ou Verdeal alentejana

Esta variedade (Fig. 2.17) apresenta árvores de grande porte e vigor; caracterizando-se por ser muito produtiva e regular, de maturação tardia. Adapta-se bem a terrenos húmidos.

O fruto apresenta uma forma ovóide ou elipsoidal (3 a 5 gr) e uma elevada resistência ao desprendimento (dificulta a colheita mecânica). É também conhecida por ter um bom rendimento em azeite (21 a 25 %);

É uma variedade resistente à Tuberculose e pouco sensível à Gafa e Mosca da Azeitona. (DGADRE e INRB, 2009)



Fig. 2.17 - Variedade Verdeal de Serpa

Fonte: DGADRE e INRB, 2009

Cordovil de Serpa

Esta variedade (Fig. 2.18) apresenta árvores de pequeno a médio porte; com uma produtividade mediana e alternante e de maturação tardia.

O fruto é pequeno e de forma obovóide (2,5 a 4 gr), apresentando resistência ao desprendimento, mas com um bom rendimento em azeite (19 a 24 %) e óptima qualidade.

É uma variedade muito sensível à Tuberculose e medianamente sensível à Mosca. (DGADRE e INRB, 2009)



Fig. 2.18 - Variedade Cordovil de Serpa

Fonte: DGADRE e INRB, 2009

Azeiteira

Esta variedade (Fig. 2.19) é predominante na zona de Elvas e Campo Maior e apresenta árvores de porte médio com uma produção regular e de maturação precoce.

Os Frutos são elipsoidais ou ovóides (3 a 5 gr), apresentando um baixo rendimento em azeite (13 a 16 %) (tem dupla aptidão).

Esta variedade apresenta baixa resistência ao desprendimento e queda acentuada, apropriada à colheita mecânica. É Resistente à Mosca e à Gafa. (DGADRE e INRB, 2009)



Fig. 2.19 - Variedade Azeiteira

Fonte: DGADRE e INRB, 2009

Carrasquenha

Esta variedade (Fig. 2.20) apresenta árvores de porte médio e pouco vigorosas com uma boa produtividade (alternante e de maturação tardia)

Os frutos são elipsoidais ou ovóides (3 a 5 gr) apresentando um bom rendimento em azeite (22 a 24 %) e apetência para a conserva em verde (industrial e caseira)

Esta variedade apresenta resistência ao desprendimento e queda reduzida, apropriada à colheita por vibração na fase de completa maturação.

É pouco susceptível à Gafa e alguma resistência à Mosca. (DGADRE e INRB, 2009)



Fig. 2.20 - Variedade Carrasquenha

Fonte: DGADRE e INRB, 2009

Conserva de elvas

Esta variedade (Fig. 2.21) é típica da região de Elvas apresentando um porte grande, muito vigorosa, esguia;

O fruto é ovóide ou elipsoidal (3 a 7 gr) apresentando uma excelente qualidade para conserva e para azeite (bom rendimento em azeite 22 a 25 %;). É resistente ao desprendimento mas apresentando uma queda acentuada no fim da maturação (apropriada para colheita mecânica)

Esta variedade é susceptível a ataques de Mosca e Olho de Pavão. (DGADRE e INRB, 2009)



Fig. 2.21 - Variedade Conserva de Elvas

Fonte: DGADRE e INRB, 2009

Cobrançosa

Variedade de origem portuguesa de Trás-os-Montes (Fig. 2.22), bastante regular e produtiva, vocacionada para a produção de azeite.

Neste momento já está difundida por todo o país. É pouco atreita a doenças da folhagem e acidentes climatéricos.

O é fruto elipsoidal (3 a 5 gr); apresentando uma dupla aptidão (azeite/conserva em negro). Tem baixa resistência ao desprendimento e queda reduzida (apropriada à colheita por vibração).

Apresenta bom rendimento em azeite, de mediana riqueza em ácido linoleico. Actualmente é a variedade mais utilizada nas novas plantações em Portugal. (DGADRE e INRB, 2009)

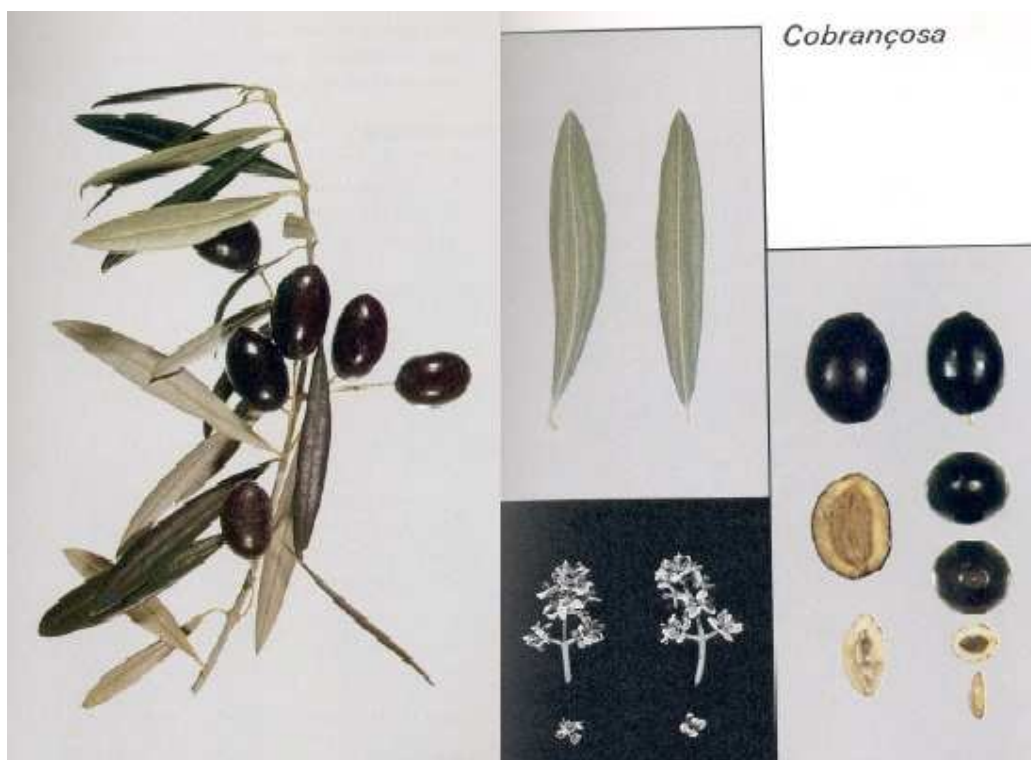


Fig. 2.22 - Variedade Cobrançosa

Fonte: DGADRE e INRB, 2009

Blanqueta

Esta variedade (Fig. 2.23) de origem espanhola, expandiu-se por Elvas e Campo Maior apresentando árvores de porte erecto sendo bastante produtiva e exigente em solos e tratamentos;

O Fruto ovóide (3 a 6 gr), apresentando um bom rendimento em azeite 21 a 24 % e de fácil a colheita com vibrador.

É resistente à Mosca e Gafa, sensível à Tuberculose; (DGADRE e INRB, 2009)



Fig. 2.23 - Variedade Blanqueta

Fonte: DGADRE e INRB, 2009

Picual

Variedade muito rústica e precoce (Fig. 2.24), com adaptação a condições adversas de clima e solo. Apresenta um rendimento em azeite médio e uma elevada produtividade (+/- constante).

Baixa resistência do fruto ao desprendimento e queda reduzida; sendo apropriada para colheita mecânica;

Esta variedade é susceptível à Mosca, Olho de Pavão, Cochonilha e Traça. Por outro lado revela-se tolerante à tuberculose, geadas e excesso de humidade do solo, pouco resistente à secura em especial nos terrenos argilosos. (DGADRE e INRB, 2009)

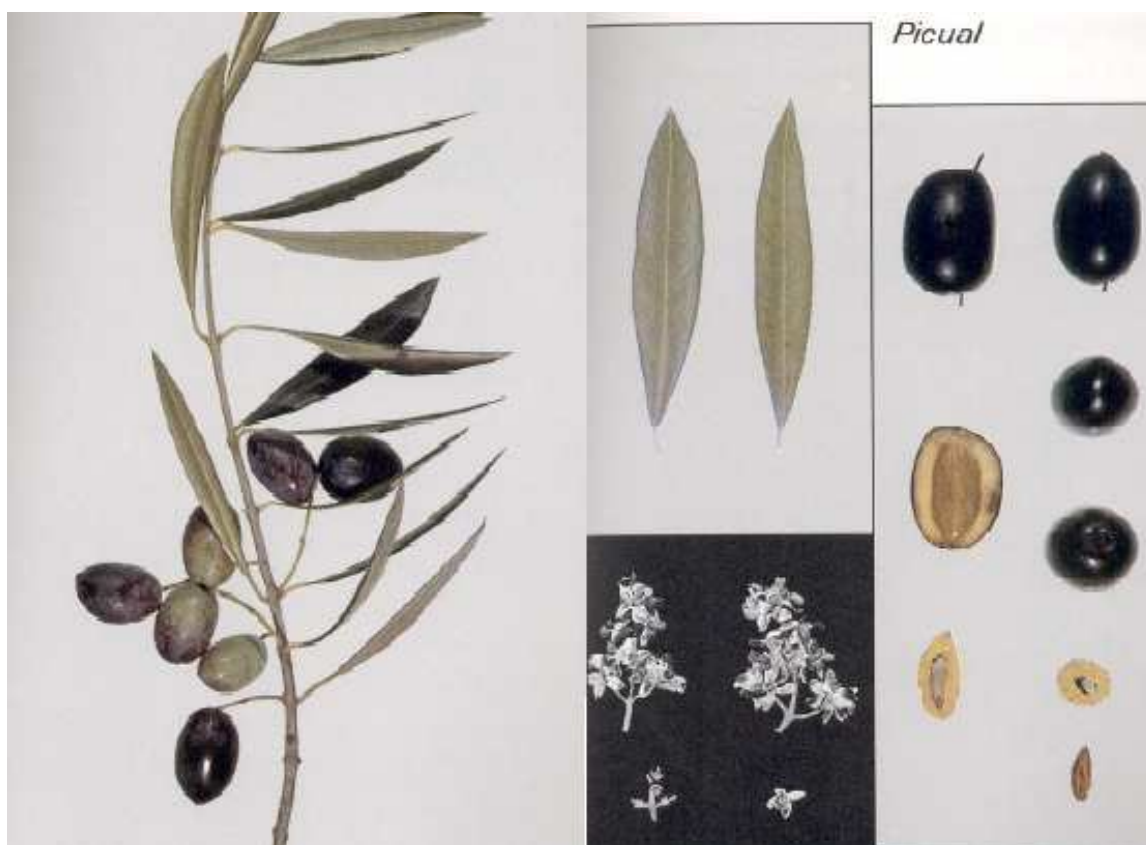


Fig. 2.24 - Variedade Picual

Fonte: DGADRE e INRB, 2009

2.4 VARIEDADE ESPANHOLA

Arbequina

Variedade considerada rústica pela sua resistência ao frio e à sua tolerância à salinidade, contudo é susceptível à clorose em solos muito calcários.

É caracterizado por uma capacidade rizogénia elevada e uma entrada em produção precoce. Ela floresce numa época intermédia e é auto compatível.

Os seus frutos (Fig. 2.25) têm uma elevada força de retenção e juntamente com o seu pequeno calibre dificultam a colheita mecânica com o vibrador de troncos.

Esta variedade é particularmente apreciada pela sua produtividade elevada e constante. O seu azeite é de excelente qualidade, principalmente pelas suas características organolépticas apesar da sua fraca estabilidade. O teor oleico dos seus frutos é elevado. O seu fraco vigor permite a sua utilização em plantações intensivas. Ela é sensível à verticilose e tolerante ao olho de Pavão e à Tuberculose. (Conseil Oléicole International, 2000)



Fig. 2.25 - Variedade Arbequina

3. A PRODUÇÃO INTEGRADA

Na revisão das regras de produção integrada, realizada pela OILB/SROP em 1999, o conceito de protecção integrada é clarificado nalguns aspectos, esclarecendo que a ênfase da protecção no contexto de agricultura sustentável é colocada na prevenção dos problemas pelos mecanismos de regulação natural e também por apropriadas medidas agronómicas, tudo no âmbito das medidas indirectas de luta, que se encontram são pormenorizadas no Quadro 3.2 (Boller *et al.*, 1999)

Nos meios directos de luta procura-se acautelar o desenvolvimento, pelos inimigos das culturas, da resistência aos pesticidas e pormenoriza-se o uso de meios de luta exclusivamente contra o inimigo a combater, com prioridade para a luta biológica e a biotécnica e o recurso a pesticidas selectivos. Quando não há alternativa, aceita-se a utilização de pesticidas semi-selectivos e de não selectivos, mas com curta persistência (Boller *et al.*, 1999).

Em 1999 (19) a OILB/SROP considerou o conceito de protecção integrada no âmbito da agricultura sustentável, isto é, da produção integrada, e deu ênfase à prevenção da resistência aos pesticidas (Quadro 3.1) (Amaro *et al.*, 2002)

Quadro 3.1 - Evolução das características das definições adoptadas pela OILB/SROP

Característica n.º natureza	OILB/SROP					Portugal	
	1969	1973	1977	1993	1999	1995	1997
1 Estimativa do risco				x	x	x	
2 Nível económico de ataque	x	x	x	x	x	x	
3 Exigências económicas, ecológicas e toxicológicas		x	x	(1)	(1)	(2)	
4 Todos os meios de luta disponíveis	x	x	x	x	x	x	
5 Prioridade à limitação natural		x		x	x	x	
6 Protecção dos auxiliares			x	x	x	x	
7 Limitação máxima da luta química			x	x	x	x	
8 Pesticidas com menores efeitos secundários			x	x	x		(3)
9 Proibição dos pesticidas não selectivos e com elevada persistência e mobilidade no solo				x	x		(3)
10 Maior segurança em relação ao Homem no uso de pesticidas				x	x		
11 Maior segurança no uso de material de aplicação				x	x		
12 Variedades resistentes ou tolerantes e misturas compatíveis de variedades				x	x		
13 Prevenção de problemas por mecanismos de regulação natural				x	x		
14 Prevenção de problemas por medidas agronómicas					x		
15 Medidas para prevenir a resistência dos pesticidas					x		
16 Protecção no contexto da agricultura sustentável					x		

(1) Exigências económicas, ecológicas e toxicológicas implícitas nas características 2, 6, 9 a 12, 14, 15.
 (2) Exigências económicas e ecológicas implícitas nas características 2, 8, 9, 10.
 (3) Exigências toxicológicas em relação ao Homem e de defesa dos auxiliares e de outra natureza definidas no art. 1.º, do Anexo 1 da Portaria 65/97 de 28 de Janeiro (51) e na lista dos produtos fitofarmacêuticos autorizados em protecção integrada.

Quadro 3.2 - - Exigências e recomendações relativas à protecção integrada, estratégia básica a adoptarem contra os inimigos das culturas em produção integrada, e em que os problemas devem ser prevenidos por mecanismos de regulação natural, de acordo com a Directiva II

Medida		Exigência-Proibição	Recomendação
Indirecta	Plantas resistentes ou tolerantes	• Utilização sempre possível	• Elaborar, para cada cultura e região, lista dos auxiliares mais importantes
	Fomento dos auxiliares	• Para cada cultura referir a importância e promover o aumento de, pelo menos, duas espécies	
	Estimativa do risco	• Utilizar sistemas de previsão e de diagnóstico precoce	
	Tomada de decisão	• Adoptar níveis económicos de ataque (NEA)	• Substituir NEA empíricos por NEA fundamentados cientificamente
Directa de luta	Meios de protecção	• Métodos mais seguros ecologicamente, como os biológicos, biotécnicos e culturais, são preferíveis aos pesticidas químicos	• Elaborar lista de métodos e pesticidas selectivos
	Pesticidas	<ul style="list-style-type: none"> • Só são permitidos produtos homologados • São proibidos os pesticidas não selectivos, com longa persistência, elevada volatibilidade, lixiviáveis ou com outros importantes inconvenientes (ex.: estimular novos inimigos) • A regulamentação da segurança relativa a pesticidas deve ser realçada 	<ul style="list-style-type: none"> • Reduzir as doses, se possível • Reduzir as áreas tratadas • Manutenção de pequenas áreas não tratadas nas culturas, excepto na presença de inimigos perigosos
	Material de aplicação	<ul style="list-style-type: none"> • A calibração regular do equipamento pelo agricultor é uma exigência básica • A fiscalização regular do equipamento (especialmente manómetros e bicos) por uma estação de serviço autorizada, pelo menos, de quatro em quatro anos 	<ul style="list-style-type: none"> • Inclusão, nos programas de formação, da calibração anual no campo, do equipamento • Fomentar a utilização de equipamento causando menor arrastamento e perda de pesticidas

3.1 PROBLEMAS FITOSSANITÁRIOS

3.1.1 Pragas

MOSCA DA AZEITONA (*BACTROCERA OLEAE* G.)

Biologia

Nas regiões de Invernos suaves hiberna sob a forma de adulto (Fig. 3.1) ou de pupa; nas outras regiões apenas sob a forma de pupa. Os adultos, com 5 a 8 mm de comprimento, possuem tórax castanho-escuro e asas transparentes com uma pequena mancha na extremidade. Os ovos são brancos e alongados, com cerca de 0,8 mm. As larvas são esbranquiçadas, com 6 a 7 mm de comprimento. As pupas são de cor acastanhada clara, segmentadas e com 0,5 a 0,6 mm de comprimento. A postura tem início quando os frutos tiverem as características adequadas, em que entram diversos factores ligados à dimensão do fruto, consistência da epiderme e da polpa, lenhificação do caroço, riqueza em gorduras e cultivar. As condições climáticas são muito influenciadoras da evolução da praga, particularmente nos 25 a 30 dias desde a postura até ao aparecimento do adulto. As posturas são inibidas a partir dos 30°C; ocorrendo elevada mortalidade de ovos, larvas e até adultos acima dos 35°C. O número de gerações variam entre duas, com clima mais frio, e quatro, com clima mais ameno, distribuindo-se, habitualmente, entre Julho e Novembro. As principais zonas de incidência da mosca da azeitona são as seguintes:

- Norte e Nordeste do distrito de Santarém, a Beira Baixa até à latitude de Alpedrinha e quase todo o Alentejo, em que as posturas viáveis só se dão em Setembro, com interrupções frequentes na evolução das larvas e morte de adultos, causadas pela secura do ar e pelas elevadas temperaturas. Nesta zona os ataques são de muito menor gravidade. (SAPEC, 2010)



Fig. 3.1 - Mosca da Azeitona

Fonte: Bayer Crop science, 2010

Estragos

Ocorre depreciação dos frutos, mediante a destruição parcial da polpa e queda dos mesmos. Na azeitona para conserva é impensável a utilização de frutos atacados. Na azeitona para indústria verifica-se a acidificação do azeite, provocada pela entrada de ar nas galerias feitas pelas larvas (Fig. 3.2), ar este que origina a hidrólise e oxidação dos óleos. (“Plagas y Enfermedades del Olivo”)



Fig. 3.2 - Estragos das larvas da mosca no fruto

Fonte: Bayer Crop science, 2010

TRAÇA DA OLIVEIRA (*PRAYS OLEAE* B.)

Biologia

As três gerações que se sucedem ao longo da campanha estão perfeitamente sincronizadas com a evolução fenológica do olival.

Geração filófaga: os adultos (Fig. 3.3), durante Outubro e Novembro depositam, os seus ovos nas folhas e as larvas recém -nascidas mantêm-se nas galerias interiores durante o inverno. Em Fevereiro aumentam a sua actividade, mudando várias vezes de folha e finalmente alimentam-se exteriormente das gemas e folhas. Crisalidam frequentemente na página inferior da folha e no interior de um casulo sedoso apesar de também o poderem fazer no tronco e no solo.



Fig. 3.3 - Traça da oliveira (adulto)

Fonte: Bayer Crop science, 2010

Geração antófaga: em Abril e Maio, os adultos que vêm da geração anterior depositam os ovos dentro do botão floral e se alimentam fundamental mente das anteras e do estigma. Crisálida nas brotações frutíferas, protegendo-se com os restos de flores secas unidas com sedas. Esta geração é de evolução mais rápida, completando-a num mês e meio.

Geração carpófaga: os adultos, que aparecem de Maio a Junho (Fig. 3.4), realizam a postura dos ovos no cálice. Quando nascem as larvas, estas perfuram directamente o fruto e entram na amêndoa antes que esta endureça. Alimentam-se da semente até que a meados de Setembro inicia a sua saída da azeitona para pupar no solo, período que dura até finais de Outubro. (Alvarado *et al.*, 2007)

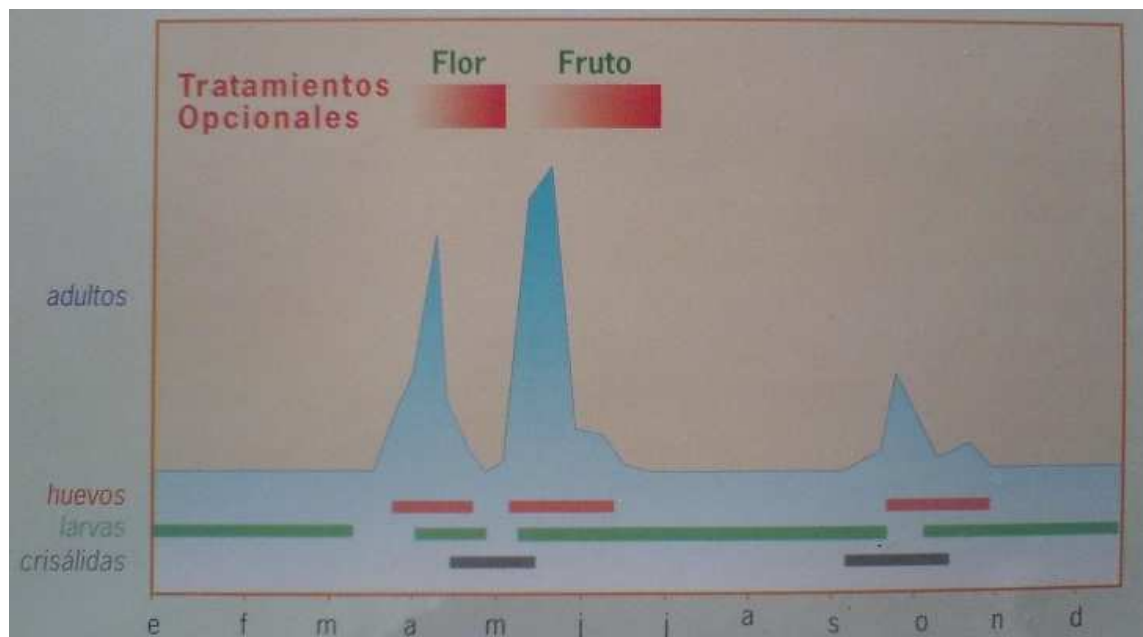


Fig. 3.4 - Ciclo Biológico da *Prays oleae*

Fonte: Alvarado *et al.*, 2007

Estragos

Geração filófaga: galerias no parênquima foliar.

Geração antófaga: presença de teias nos cachos florais (Fig. 3.5).

Geração carpófaga: queda de frutos nos quais é possível identificar o orifício de saída da larva e a destruição no interior do fruto



Fig. 3.5 - Estragos da Traça da oliveira (larva) nos botões florais (geração antófaga)

Fonte: Bayer Crop science, 2010

Margaronia (*Palpita Unionalis* H.)

Biologia

As várias gerações são sobrepostas, existindo durante todo o ano a possibilidade de encontrar todos os estados de desenvolvimento. Todavia no Inverno, com a diminuição da temperatura, a evolução deste lepidóptero (Fig. 3.6) realiza-se significativamente.

A explosão populacional desta espécie é habitualmente na Primavera – Verão e em menos no Outono, coincidindo com temperaturas mais suaves e um maior crescimento vegetativo. (Alvarado *et al.*,2007)



Fig. 3.6 - *Palpita Unionalis* (Margaronia)

Fonte: Biosani, 2010

Estragos

As larvas durante a sua evolução procedem à união das folhas apicais dos tecidos tenros com sedas e refugiam-se no seu interior para alimentar-se, podendo provocar deformações e atrasos no crescimento das plantas.

Na primavera e verão, se não houver lançamentos tenros, as larvas podem ir aos frutos para alimentar-se da sua polpa, provocando danos enormes (Alvarado *et al.*,2007)

EUZOFERA (*Euzophera Pinguis* H.)

Biologia

É frequente encontrar a todos os estados de desenvolvimento durante todo o ano, com a excepção do inverno. Esta passa de larva activa no interior de uma galeria. Até Fevereiro começam-se a ver as primeiras crisálidas e por ano começam os adultos a voar, embora em Abril se verifique o pico de voos desta geração. Nesse mês aparecem as primeiras larvas pequenas, cuja sua presença é mais notória em meados de Maio coincidindo com a diminuição das crisálidas.

No Verão, obviamente cai a actividade dos adultos (Fig. 3.7) e a presença de novas larvas. A princípios de Setembro aumenta a crisalidação e se produz uma segunda geração cuja postura se finaliza a meados de Outubro. Esta pode ser menos intensa que a da Primavera (Fig. 3.8).

Os ovos são depositados, isoladamente ou em pequenos grupos, perto de fissuras, feridas de poda, nódulos de tuberculose, bifurcações dos ramos principais e a larva recém-nascida penetra no interior da árvore fazendo uma galeria entre a casca e a madeira, e lá se alimentará durante toda a sua vida e onde crisalidará. A geração de Primavera - Verão dura uns 4 meses e a de Outono – Inverno 8 meses. (Alvarado *et al.*,2007)



Fig. 3.7 - Euzofer (Euzophera pinguis)

Fonte: Biosani, 2010

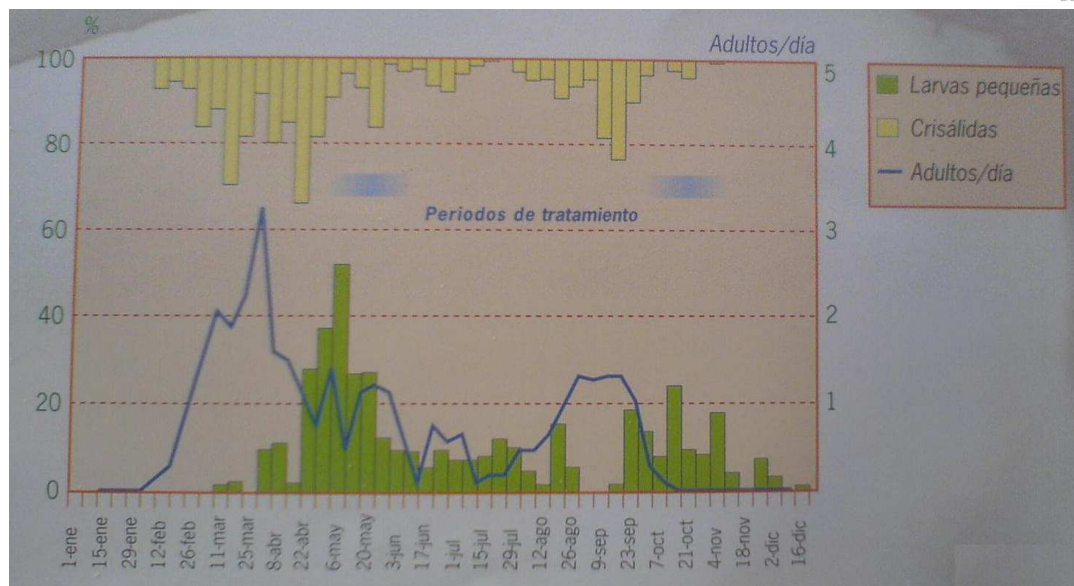


Fig. 3.8 - Ciclo Biológico da *Euzophera pinguis*

Fonte: Alvarado *et al.*, 2007

Estragos

Os danos que esta praga produz são devidos às galerias subcorticais de alimentação das larvas. Os ramos, o tronco, mostram um aspecto deprimido, amarelado e pode secar.

Os ataques mais graves geralmente correspondem a uma profusão de feridas sendo consequência de ocorrências de geadas e de granizo no final da primavera (associado à tuberculose) assim com enxertos e plantações novas de só um pé com um tutor mal colocado (deficiente). (Alvarado *et al.* 2007)



COCHONILHA NEGRA (*SAICETIA OLEAE* O.)

Biologia

A ausência de machos faz com que a reprodução desta cochonilha (Fig. 3.9) seja partenogénica (sem fecundação). Cada fêmea adulta deposita debaixo da sua carapaça para cima de 1 milhão de ovos. (Alvarado *et al.* 2007)



Fig. 3.9 - Cochonilha negra (*Saicetia oleae*)

Fonte: Alvarado *et al.*, 2007

A aparição de larvas recém-nascidas acontece em algumas zonas durante o mês de Maio. Realizam duas mudas, depois das quais podem dar-se alguns pequenos deslocamentos. Finalmente a ninfa se fixa, num pequeno galho ou numa folha, para dar forma ao adulto, completando assim uma geração. Atendendo ao aparecimento de novas larvas podem considerar duas gerações. A principal se desenvolve a partir de Maio e dá lugar a fêmeas no final do Verão. Os adultos mais precoces darão lugar a uma segunda geração que se inicia no Outono pelo que produz pequenas larvas até Abril. Uma porção variável dos adultos pertencentes à 1ª geração não se reproduz até à Primavera seguinte. Desenvolve-se uma geração anual com uma segunda parcial. (Alvarado *et al.*, 2007)

Factores como a alimentação e as condições climáticas adiantam ou retardam a aparição das larvas pelo que se pode observar as fêmeas durante maior parte do tempo, sendo que os outros indivíduos passam o Inverno no estado larvar ou de ninfa (Fig. 3.10).

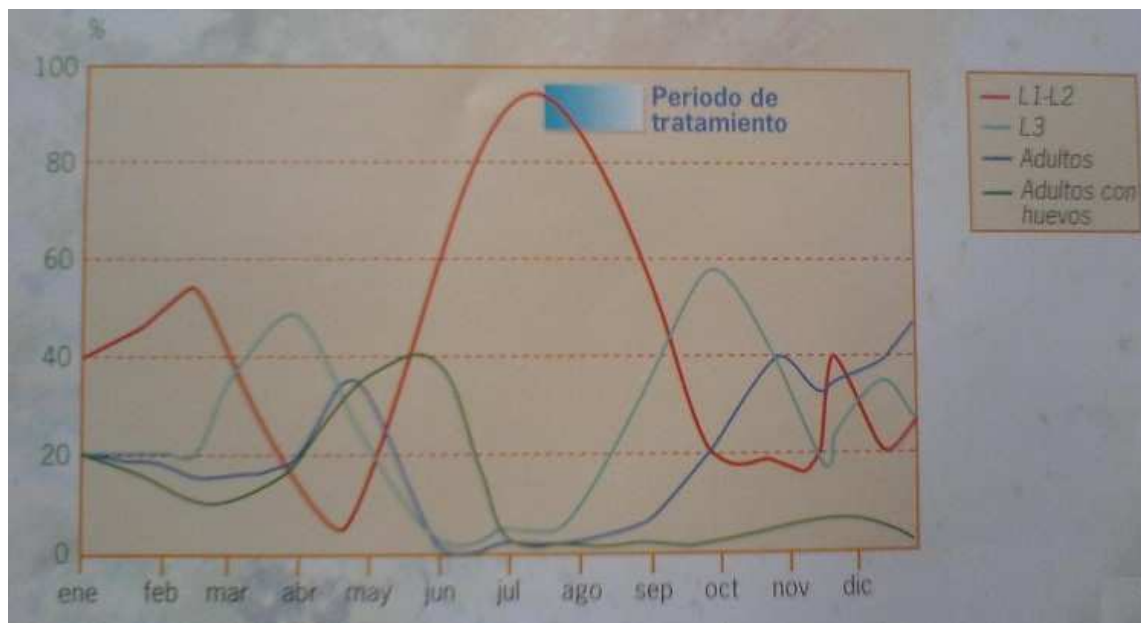


Fig. 3.10 - Ciclo Biológico da *Saicetia oleae*

Fonte: Alvarado *et al.*, 2007

Estragos

A cochonilha alimenta-se sugando a seiva da árvore, pelo que ataques severos podem afectar o estado vegetativo. O produto desta alimentação resume-se a uma melada que impregna os tecidos vegetativos, sendo um bom meio de desenvolvimento para fungos como a Fumagina (fungo saprófita) (Fig. 3.11). Estes criam uma capa, muito difícil de eliminar, que pode desvalorizar a azeitona verde e além disso reduzir a fotossíntese e provocar a perda de vigor da árvore. (Alvarado *et al.*, 2007)

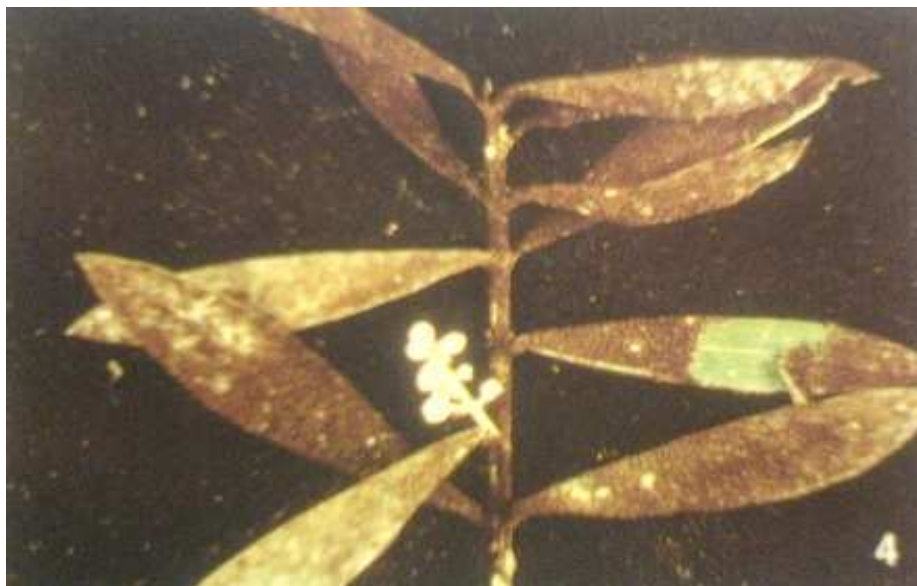


Fig. 3.11 - *Chilocorus bipustulatu* L.; (larva)

Fonte: Anónimo, 2010

3.1.2 Doenças

GAFA (*COLLETOTRICHUM GLOESPOROIDES* P.)

Dispersão

Os primeiros ataques provêm dos frutos mumificados que permanecem na árvore, sendo a chuva o agente dispersivo dos conídios que requerem uma película de água (chuva ou orvalho) na superfície de azeitona para germinar (Fig. 3.12). O fungo é capaz de penetrar em frutos sãos mas a doença só se desenvolve mais rapidamente se houver feridas no fruto. Uma semana depois da infecção podem produzir novos conídios que afectaram os frutos vizinhos (infecções secundárias).

O desenvolvimento desta doença está muito dependente da humidade. Quando a humidade relativa é alta (superior a 93%) e as temperaturas são suaves (10 a 30°C) verifica-se novos ciclos de infecção secundários que produziram graves epidemias durante o Outono. (Alvarado *et al.*, 2007)

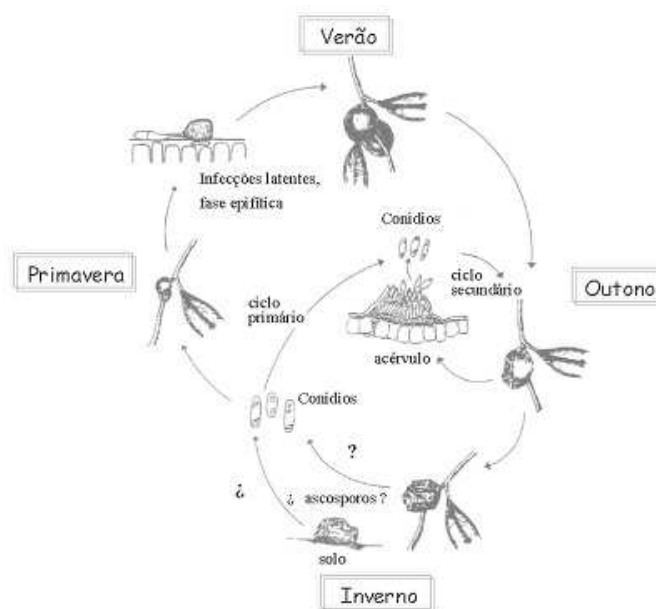


Fig. 3.12 - Ciclo de vida Gafa (*Colletotrichum gloesporoides*)

Fonte: Anonimo, 2010

Sintomas

Os sintomas geralmente só se observam em frutos, observando-se manchas necróticas redondas, de cor parda, que podem chegar a misturar-se ocasionando a podridão total ou parcial do fruto. Sobre estas manchas se desenvolvem, em condições de elevada humidade, uma substância gelatinosa de cor alaranjada (formada por uma massa de esporos do fungo) que mais tarde se tornam pardas.

As azeitonas afectadas desidratam-se, enrugam e murcham, caindo prematuramente, enquanto outras permanecem mumificadas na árvore. A queda de azeitonas ocasiona grandes perdas de produção. Os azeites obtidos a partir de frutos danificados apresentam-se turvos, com elevada acidez e uma coloração avermelhada (azeites coloridos).

Nas folhas formam-se manchas cloróticas com arestas indefinidas que aumentam de tamanho alastrando por toda a folha, sendo que estas apresentam uma cor acastanhada, acabando por murchar e cair, ocasionando importantes desfoliações e debilitação das árvores. O fungo também pode infectar os lançamentos vegetativos até 3 anos e ramos de 4 a 5cm de diâmetro. (Alvarado *et al.*, 2007)



OLHO DE PAVÃO (*SPILOCEA OLEAGINA* P.)

Dispersão

O patogénico sobrevive no Verão nas folhas doentes, em forma de esporos (conídios), junto às estruturas reprodutivas do fungo (conidiósporos). Também estão debaixo da cutícula das folhas e das suas estruturas vegetativas (micélio) que ficam activas aquando das chuvas Outonais, dando novas gerações de esporos (Fig. 3.13). Estas dispersam-se dentro de cada árvore através da chuva e do orvalho. O vento colabora na sua dispersão entre as árvores das imediações. (Alvarado *et al.*, 2007)

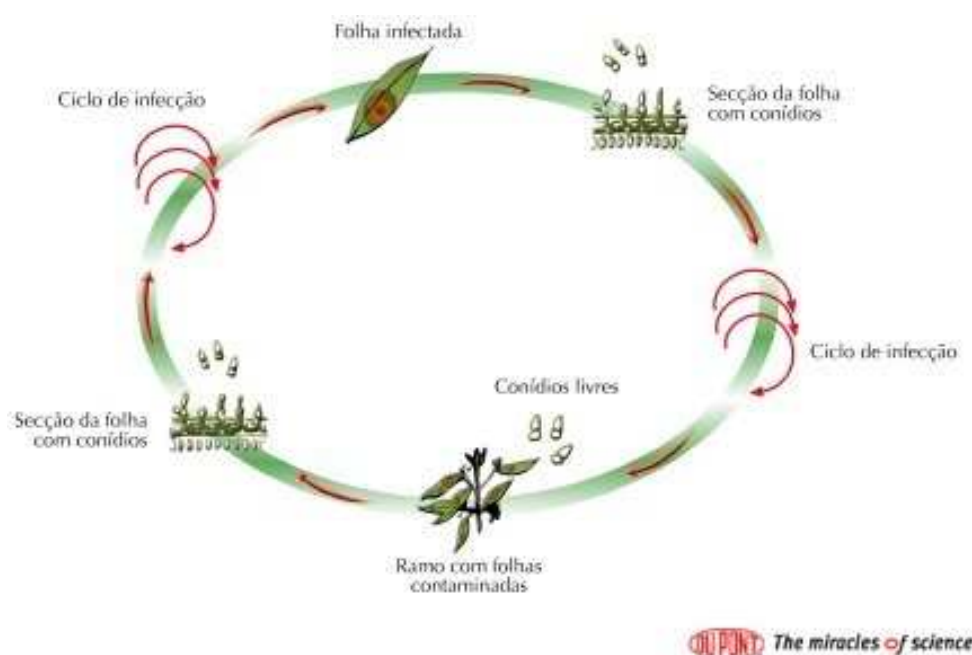


Fig. 3.13 - Ciclo de vida do Olho de Pavão (*Spilocea oleagina*)

Fonte: SapecAgro, 2011

Para os processos de germinação dos conídios e a penetração do patogénico na planta necessita-se de água livre e humidade saturada durante 1 a 2 dias com a temperatura (5-25°C, com um óptimo de 12°C). O período entre a penetração e a aparição de sintomas (período de latência) dura de 4 a 15 dias dependendo da humidade, temperatura, idade da folha e variedade. A latência das infecções é detectada com o “Método da soda”, pois ao introduzir folhas com o fungo latente numa solução de soda, nestas aparecem pontos negros.

Se chover na Primavera produzem-se as últimas infecções, que se podem manter latentes durante todo o Verão e reactivam-se no fim do mesmo, renovando o ciclo da doença no Outono-Inverno. (Alvarado *et al.*, 2007)

Sintomas

Os sintomas dependem das condições ambientais e são diferentes segundo a época do ano em que se desenrolam.

Folhas: Na página superior das folhas aparecem manchas circulares de cor marrom escuro devido à frutificação (esporos) do fungo, estas podem ocupar todo o círculo ou só a circunferência. Na Primavera as manchas desenvolvem uma aurela amarela, pouco frequente no Outono – Inverno. Ao envelhecer as lesões evoluem dando origem a anéis amarelos concêntricos, castanho e verdes que são típicos dos “olhos de pavão”.

No Verão podem aparecer machas prateadas correspondentes a lesões primaveris cujo seu desenvolvimento cessa antes de esporular a altas temperaturas. Se as temperaturas forem suaves formam-se “sardas” pardas, pequenas e irregulares com uma ligeira esporulação, semelhantes às que se produzem em variedades resistentes. E ao contrário podem aparecer colorações escuras na nervura central da folha.

Como resultados destas infecções temos um queda de folhas acentuada, agravando-se se houver ataques aos pecíolos, e assim debilitando a árvore em e a sua floração.

Frutos: Os sintomas nos frutos são raros e consistem em manchas pardas e negras de forma mais ou menos regular e de tamanho variável. A mancha faz-se notar à medida que se avança na maturação da azeitona, já que a zona colonizada pelo fungo mantém-se verde enquanto o resto do fruto se encontra negro. (Alvarado *et al.*, 2007)

VERTICILOSE (VERTICILLIUM DAHLIAE K.)

Dispersão

A principal fonte de infecções é os microesclerótidos que estão no solo, onde podem persistir por mais de 10 anos. A maioria encontra-se na camada arável do solo apesar de ser encontrado a menos de um metro de profundidade.

Os exsudados radiculares estimulam a germinação dos microesclerótidos. As hifas produzidas por estes aproveitam as feridas para penetrar no hóspede até alcançar o xilema. Uma vez dentro dos vasos, o fungo cresce e forma conídios que são transportados na seiva ascendente junto ao tronco e galhos até às folhas. Como resultado verifica-se a obstrução dos vasos da planta e o aparecimento de sintomas de queda de folha. Nas folhas caídas formam-se microesclerótidos que acabam por dar origem a novos ciclos da doença.

A incidência da verticilose é maior no regadio que em sequeiro e temperaturas do ar de 20-25°C (máximo de 30-35°C) favorece o seu desenvolvimento. (Alvarado *et al.*, 2007)

Sintomas

Conseguem-se distinguir dois tipos de sintomas de síndromes conhecidos como golpe (apoplejia) e descaimento lento, que por vezes se podem observar na mesma árvore (Fig. 3.14).

O golpe (apoplejia) é de desenvolvimento rápido e se manifesta no Outono e Inverno. São produzidos uma carga rápida gemas e ramos que geralmente iniciam-se a partir da ponta e que pode ocasionar a morte da árvore. A casca dos ramos afectados pode apresentar uma cor púrpura.

Quando se verifica um descaimento lento, principalmente na primavera, aparecem necroses e mumificação das inflorescências e caída de folha excepto na extremidade do ramo.

As árvores jovens chegam a morrer, enquanto as mais antigas só são afectadas em alguns sectores. (Alvarado *et al.*, 2007)



Fig. 3.14 - Efeitos da Verticilose (*Verticillium dahlia*) numa oliveira

Fonte: Anónimo, 2010

TUBERCULOSE (PSEUDOMONA SAVASTANOD)

Dispersão

As bactérias podem sobreviver nas cavidades dos tumores e também podem estar na superfície das folhas. A chuva redistribui por toda a árvore, penetrando na planta através das feridas produzidas pela queda das folhas, poda, colheita, geadas primaveris ou Outonais, granizos ou insectos. Segundo o tipo de ferida os tumores podem apresentar-se isolados ou formando cadeias.

Uma vez colonizados os tecidos, o patógeno altera os níveis hormonais e induz processos de multiplicação celular desordenada (hiperplasia), cujo resultado é a aparição dos tumores. Nas infecções primaveris podem aparecer às duas semanas, enquanto nas outonais ou invernais não aparecem até à primavera seguinte. As condições óptimas para o desenvolvimento da doença são humidades muito altas e temperaturas entre 21-24°C. (Alvarado *et al.*, 2007)

Sintomas

Ataca todas as partes da árvore: raízes, ramos (Fig. 3.15), folhas e frutos. Desenvolvem-se tumores pequenos, verdes e de superfície lisa. Com o envelhecimento aumentam de tamanho, até 2-3cm ao que podem cegar ais 5cm. Finalmente apresentam uma superfície irregular que se desagrega facilmente.



Fig. 3.15 - Efeitos da Verticilose Tuberculose (*Pseudomonas savastanoi*) num ramo de oliveira

Fonte: DRAP, 2010

As partes mais atacadas são os rebentos jovens que degeneram e secam dando perda de frutos e reflectindo-se na qualidade do azeite. Nos frutos, e em algumas ocasiões podem aparecer pequenas manchas castanhas; bem como afectar o pedúnculo causando a caída da azeitona. (Alvarado *et al.* 2007)

3.2 PRINCIPAIS INFESTANTES DO OLIVAL

A plantas adventícias/infestantes estão presentes durante todo o ano no olival, embora a composição da flora possa variar de acordo com a estação do ano, intensidade do sistema de produção, tipo de solo e, consequentemente da região (Pacheco *et al.*, 2009; Vasconcelos *et al.*, 2000). No Alentejo, em olivais intensivos os levantamentos florísticos mais recentes incluíram 100 e 150 espécies diferentes (Anexo V). Pela sua elevada importância, não só como infestantes mas também pelos aspectos benéficos que representam é essencial uma gestão que assegure um controlo eficaz ou a sua manutenção quando necessário (Belo *et al.*, 2009; Nave *et al.*, 2009)

Nos olivais do Alentejo, foi efectuado um estudo por Pacheco *et al.* (2009), onde verificou-se que na entrelinha e em três tipos de solos (vertissolos, luvisolos e luvisolos vérticos), que a família com maior expressão foi a das Compostas, com uma representatividade de 30% nos solos BVc e Vx, Vx (d) e de 36 % no solo Pm. (Monteiro *et al.*, 2011).

A seguir a esta família, são as gramíneas e as leguminosas, as mais importantes com valores bastantes próximos (Anexo II). A família das Crucíferas apresentou uma menor expressão no solo Pm (3%), relativamente aos solos BVc e Vx, Vx (d) (8% e 9%, respectivamente). Em todos os solos, foi inventariada uma baixa percentagem de espécies pertencentes às famílias das Malváceas e Solanáceas. Relativamente à família das Convolvuláceas, esta apresentou igualmente uma baixa representatividade, não estando presente no solo Vx, Vx (d) (Monteiro *et al.*, 2011). Na linha, nos solos BVc e Vx, Vx (d), a principal família presente foi a das Compostas, com uma representatividade de 31% e 29% respectivamente. No solo Pm, as principais famílias presentes foram as Crucíferas, Gramíneas, Malváceas e Soláceas ambas com uma representatividade de 17 %, seguindo-se depois com valores bastante próximos a família das Compostas e das Convolvuláceas. Tanto no solo BVc, como no solo Vx, Vx (d), a seguir às Compostas as famílias mais abundantes foram a das Gramíneas e a das Leguminosas. Com menor representatividade no solo BVc temos a família das Convolvuláceas (3%) e das Crucíferas (6%). No solo BVc, não foram identificadas na linha espécies da família das Solanáceas.

No solo Vx, Vx (d), as famílias com menor representatividade foram as Malváceas e as Solanáceas, não estando presente espécies da família das Convolvuláceas.

Algumas espécies dos géneros *Conyza*, *Avena*, *Bromus* e *Phalaris* são favorecidas pela não mobilização (enrelvamento e aplicação de herbicidas), encontrando-se em expansão quer na entrelinha quer na linha em grande parte dos olivais amostrados. (Monteiro *et al.* 2011).

Foi ainda constatado que a *Conyza* spp. e o *Solanum nigrum* ssp. *nigrum*, se destacam por apresentarem uma Frequência relativa (FR) superior a 50 por cento. As restantes espécies apresentam FR inferiores a 50% (Portugal *et al.*, 2011).

Verificou-se também que os taxa *Conyza* spp. e *Solanum nigrum* têm um grau de infestação elevado, embora sejam pouco abundantes. Por sua vez, a *Calendula arvensis* apresenta um grau de infestação médio. Existe ainda um grupo de taxa, como por exemplo a espécie vivaz *Convolvulus arvensis*, pouco frequentes e pouco abundantes, que têm um grau de infestação muito fraco. (Portugal *et al.*, 2011)

Algumas espécies dos géneros *Conyza*, *Avena*, *Bromus* e *Phalaris*, aparentam ser favorecidas pela não mobilização (enrelvamento e aplicação de herbicidas), encontram-se em expansão quer na entrelinha quer na linha em grande parte dos olivais (Portugal *et al.*, 2011).

Nos olivais é frequente a presença de populações de diferentes espécies deste género: *Conyza bonariensis* L. Cronq. (avoadinha-peluda), *Conyza canadensis* L. Cronq. (avoadinha) e *Conyza sumatrensis* (ex *Conyza albida*) (avoadinha-marfim) (Franco,1990; Ribeiro, 2011). Como este trabalho visa a detecção de resistência em populações de *C. canadensis*, apresentam-se as características morfológicas e bioecologias para esta espécie com detalhe.

A figura abaixo (Fig. 3.16), mostra uma infestação de *C. canadensis* na linha.



Fig. 3.16 - Pormenor duma população de *Conyza spp.* na linha de um olival.

3.2.1 Características da Avoadinha (*Conyza canadensis*)

Classificação, origem e distribuição

A avoadinha (Fig. 3.17) é uma espécie anual de Verão, que pertence à família botânica das compostas (Asteraceae); tendo origem na América do Sul, é considerada invasora, embora já esteja naturalizada em Portugal. Encontra-se distribuída por todo o país, afectando numerosas culturas anuais e perenes bem como zonas não cultivadas (Calha *et al.*, 2011).

Pode confundir-se com *Conyza bonariensis* L. na fase de plântula e de roseta sendo difíceis de distinguir, contudo ultrapassando as 12 folhas inicia-se o alongamento do caule e nesta fase já se torna mais fácil a sua identificação se observando algumas características das folhas e da inflorescência e o porte da planta (Moreira *et al.*, 2000)

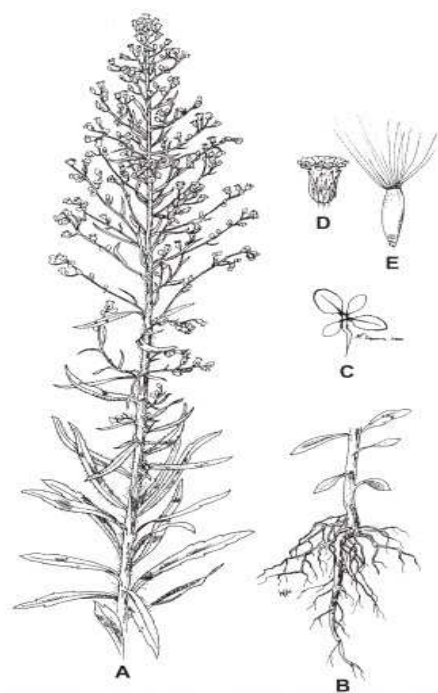


Fig. 3.17 - - *Conyza canadensis*; (A) planta adulta; (B) raiz aprumada; (C) plântula com cotilédones e duas folhas verdadeiras; (D) flor; (E) semente com papilho (Frankton and Mulligan, 1987)

Características botânicas

O Quadro 3.3 abaixo indicado faz referência a aspectos relevantes que ajudam na identificação da *Conyza canadensis*.

Quadro 3.3 - Identificação de espécies do género *Conyza* Less. Em Portugal

(Monteiro, 2011)

Características	<i>C. canadensis</i> (L.) Cronq.
Sinónimos	<i>Erigeron canadensis</i>
Nomes Vulgares	aboadorinha; avoadinha
Ciclo Vegetativo	anual ou bienal
Origem	América do Norte
Consistência	herbácea
Porte	erecto
Altura	30-150cm
Caule	> Cilíndrico
	> pêlos hirsoto-sedosos e patentes
	> lenhoso
	> ramificação intensa apenas na parte superior
	> ramos não ultrapassam o topo do caule principal
Folhas	> verdes, estreitas 3-10 x 0,2-1,2 cm, finamente dentadas, só ciliadas nas margens e nervuras da página inferior.
Inflorescência	> panícula erecta, ramificada
	>capítulos isolados pedicelados
	>capítulos com involucro de bráqueteas quase glabras
Flores	> flores liguladas esbranquiçadas muito pequenas
Frutos	> cípselas com 1-1,25mm esparsamente puberulentas
	> papilho com 2,5-3mm branco-acastanhado
Plântula	> folhas cotiledonares ovadas de base abruptamente atenuada e ápice arredondado, glabras
	> hipocótilo e epicótilo imperceptíveis

3.2.2 Germinação

As sementes maduras de *C. canadensis* não são dormentes e podem germinar sempre que as condições de temperatura e humidade forem favoráveis (WU & WALKER, 2006). Em geral, sementes de *C. bonariensis* e *C. canadensis* germinam sob temperaturas entre 10 e 25°C (ZINZOLKER *et al.* 1985). Sementes de *C. canadensis* germinam facilmente em temperaturas de dia/noite de 22/16°C (BUHLER & OWEN, 1997; BUHLER & HOFFMAN, 1999), mas não germinam quando as temperaturas de dia/noite forem inferiores a 12/6°C (NANDULA *et al.* 2006). Porém, a temperatura mínima para germinação de sementes de *C. canadensis* foi estimada em 13°C por STEINMAUS *et al.*, (2000).

Alguns autores relataram que a luz pode ser (ROLLIN & TAN, 2006) ou não ser (GORSKI, 1975) necessária para desencadear a germinação. Porém, a emergência de *C. canadensis* diminuiu 90 % a partir de sementes enterradas a 1cm abaixo da superfície do solo, comparativamente a sementes posicionadas na superfície do solo (TREMMELE & PETERSON, 1983). Resultado similar foi obtido por NANDULA *et al.*, (2006), que não verificaram emergência a partir de sementes enterradas a profundidade maior que 0,5cm. Todavia, estudo realizado nos EUA mostrou que nenhuma semente de *C. canadensis* germinou em profundidade acima de 6cm (BHOWMIK & BEKECH, 1993).

Com o objectivo de verificar a influência da luz na germinação de sementes de *C. canadensis*, os resultados de um ensaio demonstraram que as sementes desta espécie podem germinar no escuro e, também, quando submetidas a períodos intercalados de 13h de luz e 11h de escuro. Entretanto, a germinação foi maior quando houve período de luz durante o dia (NANDULA *et al.*, 2006).

As sementes desta espécie germinam sob condições de alta salinidade do solo (NANDULA *et al.*, 2006) e a germinação ocorre em maior nível em solos de pH neutro para alcalino, comparativamente aos solos ácidos (NANDULA *et al.*, 2006).

Conyza canadensis comporta-se como uma espécie anual ou bienal, dependendo das condições de ambiente. A maioria dos indivíduos germina no outono e forma uma roseta basal para sobreviver durante o inverno. Embora possa germinar durante todo o ano

(REGEHR & BAZZAZ, 1979; HOLM *et al.*1997), a pequena fracção da população que emerge na primavera produz sementes, mas morre no verão (WEAVER, 2001)

Quando as inflorescências são emitidas na primavera, as plantas florescem no início do verão e o pico da produção de sementes ocorre de meados ao final do verão (WEAVER, 2001).

Em condição de laboratório, a longevidade das sementes de *C. canadensis* manteve-se por dois a três anos (HAYASHI, 1979). Contudo, foram encontradas sementes viáveis de *C. canadensis* no banco de sementes numa área de pastagem abandonada após ausência de 20 anos de plantas da espécie (TSUYUZAKI & KANDA, 1996).

3.3 ESTRATÉGIAS DE GESTÃO DAS INFESTANTES

Técnicas mais usadas na Gestão das Infestantes

Mobilizações do solo;

São uma prática corrente em algumas regiões do país, podendo ser feitas tanto na entrelinha como também na linha, com recurso neste caso a alfaia específicas para o efeito, como as fresas descentráveis. Nas regiões quentes e secas, normalmente antes de Junho, faz-se uma mobilização na entrelinha, com o objectivo de fazer a amontoa na linha e assim, conservar a humidade junto das raízes, evitando o escaldão do colo da cepa. (Portugal *et al.*, 2011).

A adopção desta técnica deve ter em consideração as seguintes contrapartidas:

- (1) as mobilizações tendem a agravar a erosão das camadas superficiais do solo (camada mais fértil), em particular nas parcelas de maior declive;
- (2) os efeitos negativos que se fazem sentir na fertilidade dos solos (na degradação da matéria orgânica) vão alterar as propriedades físicas e biológicas do solo;
- (3) causam frequentemente danos no sistema radicular, não só porque diminui a superfície de assimilação mas também porque as feridas que causam poderão ser uma porta de entrada de doenças.(Portugal *et al.*, 2011);
- (4) as grades de discos têm um efeito multiplicador das infestantes vivazes, uma vez que aumentam o número de propágulos vegetativos.(Portugal *et al.*, 2011);
- (5) as fresas têm um efeito negativo na estrutura do solo, sobretudo nos solos mais pesados, onde promove a compactação do solo, fazendo diminuir a macro porosidade, com consequências negativas na infiltração da água, no arejamento e a médio prazo no crescimento das raízes.(Portugal *et al.*, 2011);
- (6) os custos inerentes à sua adopção, tendo em consideração o gastos de energia, a horas de trabalho e a manutenção das alfaia, são frequentemente superiores a outras técnicas (Portugal *et al.*, 2011);

É de notar que a não mobilização do solo, com recurso exclusivamente a herbicidas no controlo das infestantes é considerada uma prática inaceitável em produção integrada, uma

vez que obriga à aplicação de herbicidas residuais, que são os que deixam maiores quantidades de resíduos no solo e potencialmente na água. (Portugal *et al.*, 2011).

Enrelvamentos;

É um sistema de gestão do solo recomendado em Olivicultura, sendo que consiste numa cobertura vegetal espontânea ou semeada que ocupa a totalidade ou parte da parcela (normalmente a entrelinha), podendo ter carácter temporário ou permanente. Sendo hoje uma técnica utilizada em muitas conceituadas regiões de produção. (Portugal *et al.*, 2011).

Tem como objectivos:

- (1) Diminuição da erosão na superfície do solo (através da redução do impacto das gotas de chuva do solo); facto particularmente importante em parcelas com declives acentuados e quando ocorrem elevadas precipitações em curtos períodos de tempo;
- (2) Aumentar o arejamento, com impacto na infiltração e retenção da água do solo, assim como na diminuição da escorrência superficial de água. Estas alterações decorrem da melhoria da estrutura do solo, que ocorre devido ao aumento da macro e micro porosidade, resultantes da acção perfurante das raízes, e ao aumento da matéria orgânica do solo;
- (3) Aumentar a fertilidade do solo, sobretudo em azoto e fósforo. O aumento em azoto acontece quando o revestimento é constituído por leguminosas (luzernas, trevos, ervilhacas, serradelas, etc.), devido à capacidade que têm de capturarem o azoto atmosférico. Já o aumento do teor em fósforo fica a dever-se, fundamentalmente, à decomposição das raízes das adventícias que constituem o revestimento, encontrando-se este numa forma facilmente absorvida pelas plantas;
- (4) Diminuir a lixiviação de azoto e de resíduos de produtos fitofarmacêuticos. Este objectivo é atingido uma vez que uma parte dos resíduos são retidos na matéria orgânica (sendo libertados lentamente através da mineralização) e outra parte é decomposta pela flora microbiana que aí reside. A matéria orgânica é também, em grande medida, responsável pela diminuição das perdas de azoto por lixiviação;
- (5) Aumentar as populações de fauna auxiliar, e deste modo contribuir para o controlo biológico de algumas populações de insectos, evitando que atinjam o estatuto de praga;
- (6) Reduzir a evapotranspiração, tendo em conta que a reflexão dos raios solares faz-se sobre o revestimento e não directamente sobre o solo;
- (7) Melhorar a transitabilidade das máquinas e alfaías, em particular nos períodos em que a precipitação é maior, uma vez que têm maior tracção. (Portugal *et al.*, 2011).

Luta química (Herbicidas);

O número e diversidade de substâncias activas homologadas são suficientes para garantir uma gestão muito satisfatória da flora infestante; visto ser um meio de luta, que de um modo geral, é eficaz, fácil de utilizar e pouco dispendioso em termos de aplicação (Portugal *et al.*, 2011).

Contudo, este método não garante o sucesso da operação cultural nem é isento de riscos, pelo que a aplicação e a escolha do (s) produto(s) a utilizar são muito importantes devendo ser considerados os seguintes aspectos:

- verificar se o herbicida é eficaz em relação às principais infestantes que se pretende eliminar;
- optar por produtos menos tóxicos (produtos permitidos em Protecção Integrada), devendo escolher sempre que possível produtos de contacto ou sistémicos;
- a aplicação deve fazer-se no momento oportuno, normalmente nos primeiros estados de desenvolvimento das infestantes;
- a quantidade de produto a aplicar deve ser correctamente calculado, tendo em atenção o estado de desenvolvimento das principais adventícias e o tipo de solo;
- a distribuição do produto deve ser uniforme e, no caso dos produtos de contacto e sistémicos, devem ter-se precauções para que não se atinjam os órgãos activos da oliveira (Portugal *et al.*, 2011).

As aplicações de herbicidas residuais são de evitar (Quadro 3.4), permitindo-se deste modo que ocorram as emergências das infestantes, fazendo-se uma intervenção quando se inicia a competição (início da Primavera), que poderá, ou não, ser repetida mais tarde, dependendo do nível de infestação e das disponibilidades de água no solo, mas nunca na fase final do ciclo produtivo da cultura, uma vez que a competição já ocorreu (Portugal *et al.*, 2011).

Para combater as espécies vivazes é aconselhável a utilização de produtos sistémicos, porquanto afectam a parte aérea das plantas e os propágulos vegetativos, o que não acontece com os herbicidas de contacto. Deve fazer-se notar que em produção integrada só é permitida a aplicação de herbicidas na linha podendo, no entanto, fazer-se aplicações localizadas no combate a espécies vivazes de difícil combate (Portugal *et al.*, 2011).

Quadro 3.4 - Substâncias activas autorizadas em Produção Integrada no Olival

(Portugal, 2011)

Substância Activa	Culturas	Modo de Actuação	Modo de Acção
Amitrol	Ol.; Pom.;Vid.	Sist.+ Res.	Inib. Bio. Carotenoides
Amitrol + (tiocianato de amónio-sinérgico)	Ol.; Pom.;Vid.	Sist.+ Res.	Inib. Bio. Carotenoides
Diflufenicão + Glifosato	Ol.; Pom.;Vid.	Sist.+ Res.	Inib. Bio. Carotenoides Inb. Bio. a.a. Shiquimato
Diflufenicão + Glifosato + Oxifluorfena	Ol.; Pom.	Sist.+ Res.+Cont	Inib. Bio. Carotenoides Inb. Bio. a.a. Shiquimato Inb. Bio. Clorofila
Diquato	Ol.; Pom.;Vid.	Contacto	Inib. Fotossistema I
Diquato + Glifosato (Sal de amónio)	Ol.; Pom.;Vid.	Sist. + Cont.	Inib. Fotossistema I Inb. Bio. a.a. Shiquimato
Flazassulfurão (Katana)	Ol.; Vid.	Sist.+ Res.	Inb. Bio. a.a. valina, leucina, isoleucina (ALS)
Fluxoxipirir (Éster metilheptílico)	Ol.; Pom.	Sist.	Desregulação do cres. cel.
Glifosato	Ol.; Pom.;Vid.	Sist.	Inb. Bio. a.a. Shiquimato
Glifosato + Oxifluorfena	Ol.; Pom.;Vid.	Sist.+ Res.+Cont	Inb. Bio. a.a. Shiquimato Inb. Bio. Clorofila (enz.Protox)
Glifosato + Terbutilazina	Ol.; Pom.;Vid.	Sist.+ Res.+Cont	Inb. Bio. a.a. Shiquimato Inb. Fotossistema II (Prot. D)
Glufosinato-amónio (Basta)	Ol.; Pom.;Vid.	Contacto	Inib. Bio. a. a. glutamato
Oxifluorfena	Ol.; Pom.;Vid.	Contacto	Inb. Bio. Clorofila (enz. Protox)
Terbutilazina	Ol.; Pom.;Vid.	Sist.+ Res.	Inib. Fotossistema II (Prot.D)

4. O GLIFOSATO

Segundo Dr Steve Halter (Monsanto -. Product Safety Center), o glifosato foi na realidade, inventado por um químico suíço em 1950, Dr Henri Martin, que trabalhava para a pequena companhia farmacêutica Cilag. Em 1959, a Cilag foi adquirida pela Jonhson e Jonhson, que vendeu as suas amostras de pesquisas, incluindo o glifosato, para a Aldrich Chemical. Em 1971, a Monsanto descobriu que a Aldrich vendeu pequenas quantidades do composto para diversas companhias nos anos 60, por motivos nunca descobertos. Somente quando a Monsanto desenvolveu um programa específico para descobrir um herbicida sistémico (Fig. 4.1) com controlo de plantas perenes, é que a actividade herbicida do glifosato foi comprovada. (Velini E. *et al.*, 2009)

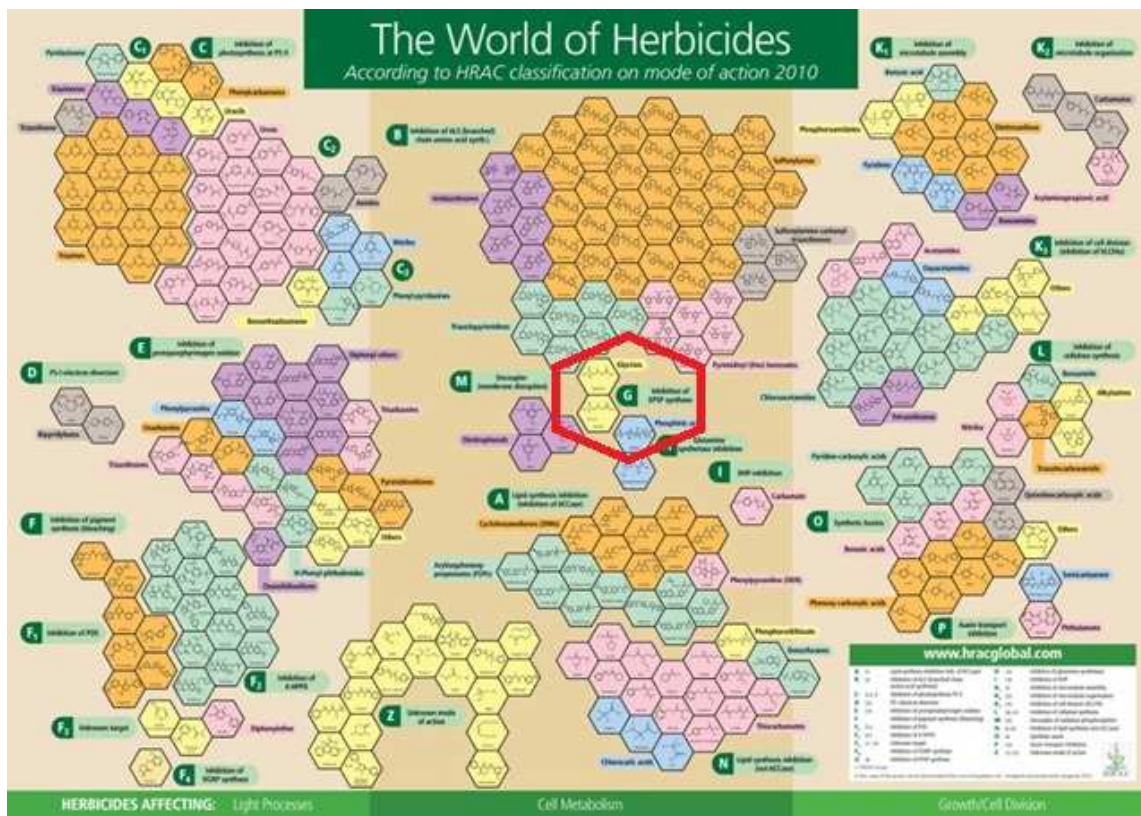


Fig. 4.1 - Mapa de herbicidas (de acordo com a classificação HRAC) (HRAC, 2010)

4.1 COMPORTAMENTO DA PLANTA E NO SOLO

4.1.1 Comportamento na Planta

Antes de se proceder à descrição do comportamento do glifosato na planta, é importante explicar alguns processos físico-químicos que se desenrolam durante a interacção herbicida-planta (mais especificamente no caso a superfície foliar).

A superfície foliar ou o interior da câmara sub-estomática é de difícil penetração para as soluções. No entanto, por essas mesmas superfícies sai a água por transpiração, o que nos permite aceitar que esse mesmo caminho possa ser utilizado em sentido inverso, demonstrando ser a cutícula permeável em alguns pontos, onde ocorra a falta de continuidade da deposição de cutina e ceras, por onde se infiltra a matriz pertinácia, altamente hidrófila. Algumas propriedades importantes das cutículas, para elucidar o caminho das soluções que entram e saem das folhas, são:

Hidrorepelência – característica de uma superfície não se molhar. Depende da afinidade entre o líquido e a superfície (adesão), afinidade entre as moléculas do líquido (coesão) e da tensão superficial do líquido. A hidrorepelência da cutícula, varia em função da quantidade e do tipo de cera existente.

Hidrofilia – Acontece na matriz de pectatos, altamente coloidal, sendo extremamente hidrófilo, com grande capacidade de retenção de água. Pela embebição da água, as pectinas aumentam de volume, promovendo o distanciamento entre as ceras e a cutícula, para substâncias polares e hidrossolúveis, sendo as folhas túrgidas altamente permeáveis à água (substância polar), as murchas quase impermeáveis) e as secas, impermeáveis.

As substâncias polares são aquelas que possuem grupos de afinidade com a água, denominados grupos polares, tais como os radicais OH-, COOH-, CHO-, CN, etc e halogéneos como I, Br, Cl. Um grupo polar, confere ao composto que o possui, certa solubilidade em água. A cutícula tem em sua estrutura, compostos de polaridade variável, o que permite que dê passagem às substâncias polares e hidrossolúveis (pectina e celulose), bem como apolares e lipossolúveis (cutina e ceras). (Velini E. *et al.*, 2009a)

Em termos de translocação nas plantas, o glifosato é transcolado pelo sim plasto, com acumulação nos tecidos subterrâneos, tecidos imaturos e meristemas. A translocação via apoplasto é limitada, provavelmente em função do herbicida se ligar aos cátions presentes. Quanto à movimentação do apoplasto para o simplasto, Denis&Delrot (1993) e Morin *et al.*, (1997) demonstraram que proteínas de transporte de fosfatos, presentes nas membranas de *Vicia faba* e *Catharanthus roseus*, respectivamente, facilitam a absorção do glifosato (Velini E. *et al.*, 2009b)

4.1.2 Comportamento no Solo

A sua absorção pelas raízes é mínima, devido principalmente ao seu alto potencial de adsorção às partículas do solo. Trata-se de um produto estável à degradação por hidrólise e fotólise. Em plantas, o glifosato é metabolizado somente em pequenas extensões em ácido aminometilfosfónico (AMPA – ácido aminometilfosfórico). No solo, quando disponível em solução, o glifosato rapidamente metabolizado pelos microorganismos ao AMPA, o seu principal metabolito, qual é subsequentemente mineralizado a CO² (Roberts *et al.*, 1998). (Velini E. *et al.*, 2009c)

O glifosato apresenta baixo potencial de lixiviação, principalmente devido à sua rápida e forte adsorção ao solo, sendo pouco provável a contaminação de águas subterrâneas. (Velini E. *et al.*, 2009d)

A adsorção ocorre principalmente na fracção mineral do solo, sendo que os óxidos de ferro e alumínio ocupam papel importante no processo; assim, os principais mecanismos de adsorção do glifosato são a troca de ligações com os óxidos de Fe e Al, através do grupo fosfórico, e as pontes de hidrogénio, também formadas com as substâncias húmicas presentes no solo (Feng & Thompson, 1990; Milano *et al.* 1992; Piccolo *et al.* 1994; Gerritse *et al.*, 1996; Piccolo *et al.*, 1996; Undabeytia *et al.*, 1996; Cheah., 1997; Prata *et al.*, 2000; Da cruz *et al.*, 2002). Em raras ocasiões, o pesticida tem sido detectado em amostras de água, sendo que a maioria das observações ocorreram em fontes superficiais, quando o produto foi provavelmente escoado superficialmente. (Velini E. *et al.*, 2009d)

4.2 MODO DE ACÇÃO

O modo de actuação de um herbicida corresponde ao conjunto de processos que ocorrem desde o seu contacto inicial com as plantas até que as mesmas estejam mortas ou o seu crescimento fique paralisado (Velini E. *et al.*, 2009e) e compreende os processos de absorção, translocação e modo de acção bioquímico.

Absorção – As substâncias, iões ou moléculas, aplicadas à superfície das folhas, em soluções aquosas podem, atravessar a cutícula externa, ou penetrar nos estomas, até atingirem o simplasto foliar. Das que atravessam a cutícula externa, as **polares** podem seguir a rota aquosa, difundindo-se através das pectinas, ou por meio dos vários tipos de trocas iónicas e sistemas de Donnan, nas interfases da cutícula. As **não polares** podem difundir-se nas ceras e na cutina, seguindo a rota lipídica e também, translocar-se por difusão facilitada (Velini E. *et al.*, 2009f)

Translocação – Conforme foi evidenciado nos trabalhos de Denis & Delrot (1993), o facto do glifosato ter o seu transporte facilitado por proteínas de transporte de fosfato em plantas é bastante relevante. A expressão do gene associado a este transportador pode alterar a eficácia com que o glifosato é absorvido (transportado do apoplasto ao simplasto) e translocado em plantas. (Velini E. *et al.*, 2009b)

Modo de acção bioquímico – A enzima EPSPs é codificada no núcleo e desempenha sua função no cloroplasto (Stauffer *et al.*, 2001). É importada pelos cloroplastos a partir do citoplasma como precursor. Catalisa a ligação dos compostos chiquimato-3-fosfato (S3P) e fosfoenolpiruvato (PEP) (Peterson *et al.*, 1996). O glifosato não é análogo ao do PEP, pois inibe apenas a EPSPs e não outras PEP-enzimas e também porque a ligação do glifosato e do PEP à EPSPs não são idênticas; a ligação do glifosato provavelmente ocorre no sítio de ligação do fosfato nesta enzima (Velini E. *et al.*, 2009g).

A inibição da EPSPs leva à acumulação de altos níveis de Shiquimato nos vacúolos o que é intensificado pela perda do controlo do fluxo de carbono (Alves, 2000; Singh & Shaner, 1998), (Velini E. *et al.*, 2009h)

O glifosato [n-(fosfonometil)glicina] (figura 29) é um herbicida pertencente ao grupo químico das glicinas substituídas, aplicado em pós-emergência e tem acção sistémica. É absorvido pelas folhas e transcolado para os tecidos merismáticos da planta, preferencialmente via floema. Liga-se à enzima 5-enolpirovilchiquimato-3-fosfato sinetasse (EPSPS), inibindo a biossíntese dos aminoácidos aromáticos, fenilalanina, tirosina e triptofano, da via do Chiquimato. Também inibe a síntese de clorofila, estimula a produção de etileno, reduz a síntese de proteínas e eleva a concentração de AIA (ácido indolacético) (Velini E. *et al.*, 2009c).

5. RESISTÊNCIA ADQUIRIDA AOS HERBICIDAS

5.1 NOCÕES GERAIS

A resistência adquirida a herbicidas é definida como a capacidade hereditária de uma planta para sobreviver e se reproduzir depois da aplicação de dose de herbicida que normalmente mataria a população selvagem.

Os herbicidas não induzem a resistência nas plantas apenas seleccionam os indivíduos resistentes, processo que ocorre normalmente dentro da população de infestantes.

Quanto mais vezes o herbicida é usado, maiores são as probabilidades de se encontrar indivíduos resistentes no terreno. Uma vez que surja uma planta resistente, a aplicação repetida do mesmo herbicida sobre as sucessivas populações vai permitir que estas proliferem em detrimento das mais susceptíveis que são eliminadas.

Uma vez que o gene de resistência seja seleccionado numa população, a eficácia do herbicida decresce rapidamente. Os biótipos resistentes vão produzir sementes, aumentando assim a sua presença no banco de sementes do solo. A percentagem da população resistente vai aumentando gradualmente a uma escala imperceptível fazendo com que este passe num período curto de tempo, a ser metade da população original. É por essa razão que o controlo da infestante no terreno passa de uma situação controlada ($> 90\%$ de eficácia) para uma fora de controlo ($< 50\%$ eficácia) em apenas um ano. Este problema leva vários anos e quando a resistência é evidente geralmente já o processo é irreversível. (Nandula, V.K. (ed.), 2010)

5.2 RESISTÊNCIA CRUZADA, RESISTÊNCIA MÚLTIPLA E NÍVEL DE RESISTÊNCIA

Este termo é aplicado quando a mesma população tem capacidade para resistir não só ao herbicida responsável pela selecção mas também a outros herbicidas com o mesmo modo de acção ou herbicidas que são degradados pelo mesmo sistema enzimático (Rubin, 1991; HRAC, 1994; Pérez & Kogan; 2001), encontrando-se este aspecto, na prática, associado à perda de eficácia do herbicida (Calha & Rocha, 2003). No entanto, para Gunsolus (1993), é mais provável o aparecimento de resistência cruzada positiva (RCP) entre herbicidas do mesmo grupo químico e com o mesmo modo de acção. Se pelo contrário, as infestantes manifestarem maior sensibilidade a outros herbicidas, a resistência cruzada diz-se negativa (RCN), uma vez que se só um gene é responsável pela resistência a vários herbicidas, geralmente com o mesmo modo de acção, a resistência é positiva (RCP) (Calha & Rocha, 2003). Consoante o mecanismo responsável pela resistência, a resistência cruzada pode classificar-se em: resistência cruzada no local de acção (“Target site cross resistant”), que normalmente corresponde a uma enzima específica de determinado processo bioquímico, em que, as resistências cruzadas podem restringir-se a compostos com o mesmo modo de acção e a resistência pode ser considerada como “absoluta”, pois não há dose capaz de combater aquela população resistente no campo (mais frequentes em dicotiledóneas e monocotiledóneas e não gramíneas) e resistência fora do local de acção (“non Target site cross resistant”) (Pérez & Kogan, 2001), se a taxa de metabolização for mais elevada, e as resistências cruzadas podem abranger um leque muito variado de famílias químicas, associadas a modos de acção muito diferentes (Shaner, 1995). Em ambas as situações encontra-se envolvido apenas um mecanismo de resistência. A primeira, mais comum, ocorre quando uma alteração no local de acção de um herbicida também confere resistência a outros herbicidas de diferentes grupos químicos, mas que inibem a mesma enzima ou proteína na planta (HRAC, 1995b). No entanto, a resistência nem sempre conduz ao aparecimento de resistência cruzada a todos os herbicidas com o mesmo modo de acção (Hall *et al.*, 1994; Poweles & Preston, 1995), na medida em que o local onde esses herbicidas actuam é muito específico para essas moléculas.

A resistência cruzada fora do local de acção é um tipo de resistência cruzada conferida por um mecanismo diferente da mutação na enzima (HRAC, 1995b), tal como a redução na penetração, translocação, metabolização, mudanças intra ou inter celulares (Hall *et al.*, Poweles & Preston, 1995; Pérez & Kogan, 2001).

O parâmetro que permite avaliar e quantificar a resposta das plantas à dose na qual o herbicida é aplicado designa-se por Nível de Resistência (NR), e é determinado através do quociente entre as doses que provocam o mesmo efeito no biótipo R e no Biótipo S.

Normalmente, é utilizada a dose necessária para provocar uma redução de 50 % (ED₅₀;GR₅₀), no parâmetro avaliado, seja ele o peso foliar (peso verde ou peso seco), o número de plantas que sobrevivem à aplicação (LD₅₀), ou a actividade de uma determinada enzima relativamente à testemunha (IC₅₀) (Maxwell & Mortimer; 1994; Moss, 1995).

O valor de ED₅₀ para Streibig *et al.* (1995) é o mais apropriado para estudar a eficácia e a selectividade dos herbicidas.

Populações com NR inferiores a 10 são consideradas moderadamente resistentes, enquanto para valores superiores a 10 correspondem populações muito resistentes (Tranel & Wright, 2002) e mais concretamente o NR apresenta valores superiores à unidade para o caso da RPC e da RCM, e para valores próximos ou inferiores à unidade para RCN. Este valor de NR permite ainda indicar se a resistência é de origem cloroplástica ou não; se este índice for muito elevado (≥ 200) trata-se de resistência cloroplástica ao glifosato, em valores de NR podem variar entre 200 e 1000 para cloroplastos isolados, conforme a espécie e a substância activa.

Hall *et al.*, (1994) explicam que os diferentes valores de NR para herbicidas com o mesmo modo de acção (resistência cruzada no local de acção) podem surgir se um herbicida tiver mais do que um local de acção ou se o local de ligação do herbicida à enzima não idêntico.

5.3 PRINCIPAIS MECANISMOS DE RESISTÊNCIA ADQUIRIDA

AO GLIFOSATO

Existem três principais mecanismos de resistência ao glifosato:

- mutação no gene que codifica a enzima - alvo EPSP sintetase (Target site mutation);
- alteração do padrão de translocação do herbicida
- amplificação do gene da EPSP sintetase.

A mutação no gene que codifica a enzima alvo (EPSP sintetase) processa-se pela substituição do resíduo correspondente ao aminoácido prolina na posição 106, “Pro106” no gene EPSPS, que passa a codificar enzimas com menos afinidade para se ligarem com às moléculas do glifosato. O “Pro106” não está realmente no local de ligação do glifosato, apenas houve uma substituição do aminoácido nessa posição

A reorientação do sítio de ligação reduz de tal forma a afinidade com o glifosato, que se acredita que as mutações desta natureza conferem um maior nível de resistência aos herbicidas. As mutações no sítio de ligação tipicamente conferem um nível muito mais elevado de resistência a herbicidas, o que explica o nível relativamente o baixo nível de resistência associada com essa mutação (2-4 vezes). (Nandula, V.K. (ed.), 2010).

A alteração do padrão de translocação do herbicida foi identificada como o mecanismo de resistência em populações de Azevém rígido (*Lolium rigidum*), Azevém italiano (*Lolium perenne*), e avoadinha (*Conyza canadensis*). Em plantas resistentes, o glifosato acumula-se nas folhas ao invés de ser translocado por toda a planta. A extensa sistemica por toda a planta é um factor chave que faz do glifosato um herbicida muito eficaz, o que pode explicar por que uma redução na translocação (Fig. 5.1) pode produzir uma redução tão dramática na eficácia.

Segundo Beckie (2011), a translocação reduzida no tecido meristemático, é o que impede que os níveis fitotóxicos de glifosato cheguem ao local de destino; sendo que estes mecanismos fisiológicos responsáveis pela translocação reduzida, podem envolver o sequestro vacuolar de glifosato, captação reduzida ou até mesmo a exclusão do mesmo (glifosato).

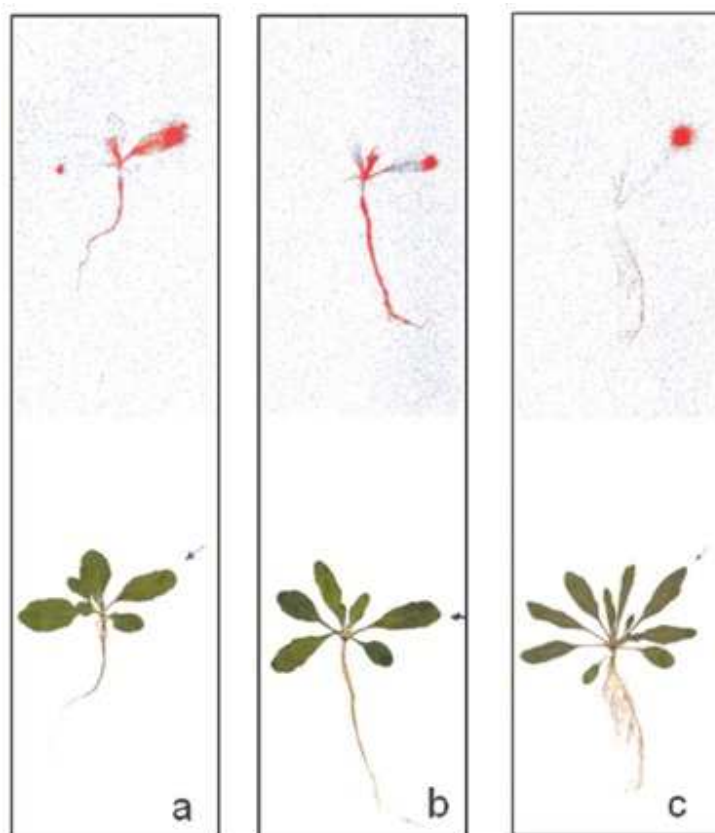


Fig. 5.1 - - Imagens demonstrando o movimento do [14C] glifosato em plantas de *C. sumatrensis* (a), *C. bonariensis* (b) e *C. canadensis*. As imagens foram capturadas 96h após o tratamento, a coloração a vermelho indica maiores concentrações de glifosato. As setas apontam o lugar onde incidiu o tratamento. (Torralva, G. *et al.*, 2010)

A alteração da translocação mostrou que pode produzir um nível de resistência ao glifosato (8-12 vezes) mais elevado do que a mutação da EPSP sintetase (2-4 vezes) (Nandula, V.K. (ed.) 2010). Este mecanismo tem sido relatado com mais frequência em biótipos de *C. canadensis*, *C. bonariensis* (L.) Cronq., *L. rigidum* e *L. multiflorum* Lam. (Beckie, 2011).

A **amplificação do gene** foi identificada como o mecanismo de resistência ao glifosato em que os genomas das plantas resistentes têm entre 5x e 160x mais cópias do gene EPSP sintetase do que as em plantas susceptíveis. Em plantas resistentes, a EPSP sintetase ainda é inibida pelo glifosato (

Fig. 5.2), mas os altos níveis desta enzima EPSP sintetase na planta permitem que estas sobrevivam. (Nandula, V.K. 2010)

O ciclo do Chiquimato nas plantas produz aminoácidos aromáticos como a fenilalanina, tirosina e o triptofano. O glifosato liga-se ao ácido 5-enolpiruvilchiquimitico-3-fostfato (EPSP) sintetase que vai bloquear esse ciclo matando a planta. (Nandula, V.K. 2010)

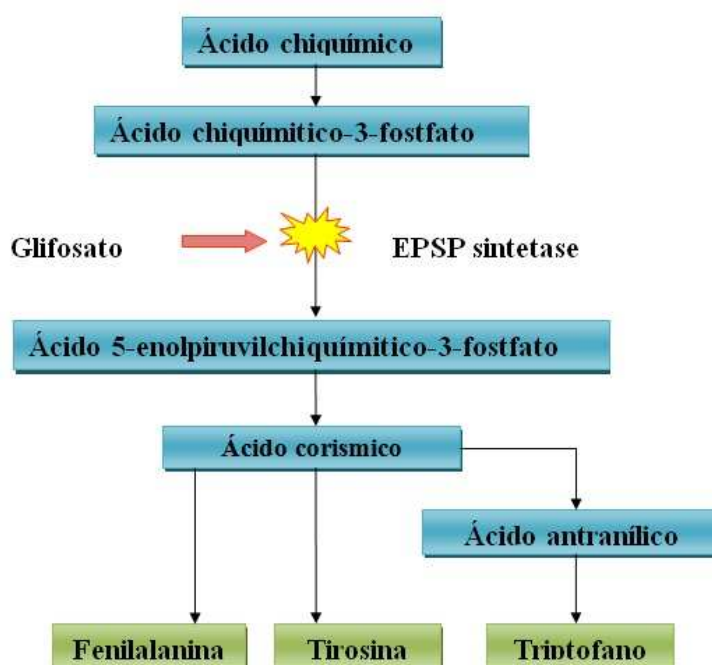


Fig. 5.2 - Ciclo do Chiquimato

Fonte: Adaptado de “Glyphosate in Weeds” - Revista Pioneer

As mutações do gene que codifica a enzima EPSP sintetase são de longe o mecanismo mais comum de um herbicida, excepto para o caso do glifosato. Estas mutações alteram a molécula de EPSP sintetase de tal modo, que permite que as funções biológicas da infestante se processem mesmo na presença das moléculas do herbicida, às quais não conseguem agregar à molécula alvo. Outros mecanismos como a redução da translocação do herbicida na planta provaram ser menos comuns. (Nandula, V.K. 2010)

5.4 PRINCIPAIS FACTORES RESPONSÁVEIS PELA OCORRÊNCIA DE BIÓTIPOS RESISTENTES

Os principais factores que afectam a evolução de resistência das infestantes a herbicidas têm sido grupadas em: Genéticos, bioecológicos e agronómicos. (Quadro 5.1) (Velini. E.; (2009j))

De acordo com Chritoffoleti *et al.* (2000), qualquer população em que os indivíduos mostrem uma base genética variável quanto à tolerância a uma medida de controlo, irá, com o tempo, mudar a sua composição populacional como mecanismo de fuga para a sobrevivência, diminuindo a sensibilidade a esta medida de controlo.

As infestantes são organismos biológicos que evoluem em resposta às mudanças ambientais (distúrbios e stresses), o que resulta na mudança de espécies (*weed shifts*) e na resistência das infestantes aos herbicidas. O uso intensivo de herbicidas na agricultura é uma das maiores causas da pressão de selecção, proporcionando os fenómenos de mudança de espécies na área e resistência das infestantes ao herbicida, devido à eficácia e ao controlo selectivo. A evolução das infestantes impulsionadas pelos herbicidas é consequência de forças selectivas, resultando na selecção intra-específica de biótipos (resistência a herbicidas) e selecção interespecífica (tolerância a herbicidas). De entre as maiores forças selectivas podem ser incluídas: escolha do herbicida; sistema de cultivo; escolha da cultura; práticas culturais; mudanças climáticas/ padrões de clima; introdução de novas espécies. (Velini. E. *et al.*, (2009i))

Os factores bioecológicos determinantes no aparecimento de biótipos de infestantes resistentes estão relacionados com a característica da infestante. Desta forma, não existe qualquer indicação de quais as espécies, géneros ou famílias botânicas de infestantes resistentes aos herbicidas. As características bioecológicas das plantas daninhas que conduzem a um rápido desenvolvimento da resistência são: ciclo de vida curto, elevada produção de sementes, baixa dormência da semente, várias gerações reprodutivas por ano, extrema sensibilidade a um determinado herbicida e grande diversidade genética (Chritoffoleti *et al.*, 1994; Vidal & Fleck, 1997b; Vargas, 2003).

Quadro 5.1 - Principais factores que afectam a evolução da resistência de infestantes a herbicidas

Factores	Características
Factores Genéticos	<p>Frequência inicial da resistência</p> <p>Dominância dos alelos resistentes</p> <p>Tipo de fecundação</p> <p>Número de alelos resistentes</p> <p>Adaptação ecológica</p>
Factores bioecológicos	<p>Espécie</p> <p>Número de gerações por ano e taxa de reprodução</p> <p>Longevidade das sementes no banco de sementes</p> <p>Densidade da espécie</p> <p>Susceptibilidade da infestante ao herbicida</p>
Factores Agronómicos	<p>Característica do herbicida</p> <p>Grupo químico Residual</p> <p>Eficiência de controlo</p> <p>Dose utilizada</p> <p>Práticas culturais</p> <p>Utilização exclusiva de herbicidas no controlo de plantas daninhas</p> <p>Uso repetitivo do mesmo herbicida ou de herbicidas com o mesmo mecanismo de acção</p> <p>Frequência de aplicação</p> <p>Sistema de cultivo</p>

5.5 FACTOR RELACIONADO COM O HERBICIDA

Pressão de selecção

O principal factor responsável pela ocorrência da resistência é provavelmente a intensidade da pressão de selecção exercida pelo herbicida (Gressel & Segel, 1982; Salas, 2011).

A resistência será importante, em termos agronómicos, a partir do momento em que as infestantes sejam seleccionadas, em consequência do uso repetido e ao longo de vários anos, do mesmo herbicida ou de herbicidas com o mesmo modo de acção específico. Se o herbicida for suficientemente persistente para impedir a germinação de qualquer espécie ao longo do ciclo cultural, a selecção será ainda mais rápida (Gasquez, 1994)

Para Gressel (1985), a aplicação de herbicidas aumenta sempre a proporção de biótipos resistentes (R) na população e a aplicação repetida do mesmo herbicida vai permitir estabilizar a resistência nessa população. Assim, se já existirem genes de resistência na população infestante, parece evidente que quanto maior for a taxa de mortalidade provocada pelo herbicida mais rapidamente aumenta a frequência de biótipos resistentes a essa população.

A eficácia do herbicida é variável, considerando-se em geral satisfatória do ponto de vista agronómico e para determinada dose de emprego de 90 % a 95 %; mesmo que se apliquem doses mais elevadas tal nem sempre se traduz em aumento de eficácia.

Segundo Gressel & Segel (1982), ficariam sempre alguns indivíduos remanescentes mas que não podem ser resistentes. Estes mesmos autores estabelecem uma diferença entre a eficácia do herbicida e a pressão de selecção, e assim, para aliviar esta última, criaram um novo termo denominado mortalidade efectiva.

A eficácia do herbicida depende da sua actividade sobre a população infestante e é, normalmente, avaliada pela % de recobrimento relativamente a uma parcela testemunha não tratada (OEPP, 2004). Esta eficácia não depende apenas do efeito imediato sobre as infestantes, designadamente da actividade residual do herbicida no solo, e também das características das infestantes, designadamente se produzem germinações escalonadas ao longo do tempo. A mortalidade efectiva consiste na análise da eficácia do herbicida a longo

prazo, permitindo avaliar uma possível redução na produção de sementes, devida à aplicação do herbicida durante o ano em que a mesma foi feita (Gressel & Segel, 1982).

A capacidade das plantas remanescentes para ocuparem o espaço vazio disponível depois da aplicação do herbicida (“Efeito Parkinson”) vai influenciar a mortalidade efectiva. Uma mortalidade efectiva muito elevada depende da eficácia e da persistência do herbicida (Gressel & Segel, 1982).

Assim, a duração da actividade biológica do herbicida e a época em que foi aplicado podem afectar significativamente a mortalidade efectiva, contribuindo então para o aparecimento de resistência (Gressel, 1991). A mortalidade efectiva pode atingir valores bastante diferentes (40 a 90 %) consoante a persistência do herbicida aplicado. Com efeito, a emergência tardia de sementes pode ser insignificante para herbicidas com elevada persistência ou pode ser importante para herbicidas com taxas de degradação elevadas (Gressel & Segel, 1982).

A persistência do herbicida no solo afecta não só a taxa de mortalidade das plantas mas também a capacidade competitiva (uma dos componentes da adaptabilidade) entre os biótipos S e R. Com efeito, herbicidas pouco persistentes permitem a sobrevivência de plantas do biótipo R. Mantendo-se alguns indivíduos S, verifica-se uma competição entre biótipos S e R manifestando-se, no caso de resistência às glicinas, a supremacia do biótipo S sobre o biótipo R, sofrendo este último uma penalização associada à resistência (Gressel & Segel, 1982; Gressel, 1991).

A pressão de selecção será maior para herbicidas residuais, isto é, aplicação em pré-emergência das culturas, que geralmente têm maior período de persistência no solo (Gressel, 1991), modo de acção específico e actuam apenas num local de acção, inibindo determinadas enzimas de um processo fisiológico vital para a planta. Para herbicidas com múltiplos locais de acção são menos prováveis que existam biótipos com diferenças genéticas em todos os locais de acção que resultem em resistência (Gunsolus, 1993; Thompson *et al.*, 1994).

A evolução da resistência ocorre mais lentamente onde se aplicam herbicidas menos eficazes porque sobrevive um elevado número de plantas que produzem semente, enriquecendo o reservatório de sementes do solo com sementes susceptíveis. Com o contínuo retorno de uma elevada percentagem de sementes susceptíveis ao solo, a proporção entre biótipos R e S evolui muito lentamente. Pelo contrário, quanto mais susceptível a um determinado herbicida for uma infestante, maior é a pressão de selecção (Gunsolus, 1993). Se a proporção entre biótipos R e S for muito baixa, a resistência avançará lentamente; se esta proporção for elevada, a resistência avançará rapidamente.

5.6 FACTORES RELACIONADOS COM A INFESTANTE

Adaptabilidade de biótipos resistentes

A dinâmica de resistência das infestantes aos herbicidas está dependente da capacidade de sobrevivência e de reprodução dos biótipos R relativamente aos S (Radosevich *et al.*, 1991).

A maior adaptabilidade do biótipo R relativamente ao S, seleccionado após a aplicação repetida de herbicidas, determina a evolução e disseminação da resistência.

Quando o biótipo R é menos apto do que o S, ao deixar de se fazer a aplicação do herbicida, a selecção natural pode restaurar rapidamente a susceptibilidade na população, isto é, os biótipos S passam a dominar a população. Isto vem ao encontro de algumas medidas de prevenção de resistência, em que se aconselha manter, no campo, bandas de plantas susceptíveis (Gressel & Segel, 1982). A adaptabilidade de uma espécie dos biótipos R e S tem uma poderosa influência na dinâmica das populações R e S (Radosevich *et al.*, 1997; Alcocer-Ruthling *et al.*, 1992). A adaptabilidade de uma espécie de uma infestante irá afectar a taxa a que os seus genes variam numa população.

Para Gasquez (1995), a única explicação possível para a fraca frequência de biótipos R em todas as populações reside no facto destes biótipos, em condições naturais, isto é, de ausência de herbicidas, apresentam menor capacidade adaptativa do que os biótipos S.

Em presença do herbicida, a pressão de selecção aumenta a capacidade adaptativa do biótipo R (Gressel & Maxwell *et al.*, 1999). O biótipo seleccionado pode ter capacidade adaptativa reduzida mas o gene de resistência confere um elevado valor selectivo para as áreas tratadas (Gressel & Maxwell *et al.*, 1999). Se pelo contrário o biótipo R não fosse menos competitivo do que o biótipo S, a frequência da mutação ir-se ia reduzindo muito lentamente ou não seria afectada (Maxwell *et al.*, 1999). Os indivíduos seleccionados por determinada pressão de selecção são, normalmente, menos adaptados ao ambiente.

Frequência da mutação pela resistência e hereditariedade

É possível considerar para qualquer herbicida a existência de um biótipo R, numa frequência infinitamente baixa e arbitrária na população infestante (Gressel & Segel, 1982).

A frequência inicial do biótipo R do número de genes envolvidos, da ploidia e da dominância (Saari *et al.*, 1994). A resistência pode ser subdividida em duas categorias: monogénica e poligénica. A primeira está associada à expressão de um único gene, enquanto a segunda envolve mais de um gene. A resistência monogénica irá resultar em, pelo menos, duas subpopulações distintas: uma tendo resistência completa; e outra sendo susceptível ao produto fitofarmacêutico. Se, pelo contrário, a resistência é o resultado de uma variação poligénica, haverá um decréscimo gradual na sensibilidade e na emergência de um número de subpopulações indistintas. A mutação de um único gene permite um alto nível de resistência num curto período de tempo. É por este motivo que a resistência monogénica é classificada de alto risco, enquanto a poligénica é de baixo risco (EPPO, 1994). A resistência poligénica apenas pode ocorrer por mutação de um determinado número de genes, através da recombinação e selecção sequencial, sendo, nesta situação, raro ou impossível ter uma rápida quebra de eficácia.

A resistência por metabolização, ou até para mecanismos desconhecidos, em cada caso apenas um gene dominante ou semi-dominante está envolvida. Este tipo de resistência pode ser poligénica e é considerada quantitativa, isto é o nível de resistência vai aumentando progressivamente à medida que o número de genes envolvido for aumentando.

De um ponto de vista genético, a resistência irá invadir os campos mais rapidamente se for do tipo monogénico e não estiverem associadas penalizações à característica da resistência, que se traduzam em redução de adaptabilidade (Luis, T.S., 2005).

Processo de reprodução

Em determinadas espécies é maior a probabilidade de adquirirem resistência do que outras. As seguintes características parecem contribuir para essa situação: espécies predominantemente anuais e herbáceas; total ou parcialmente autogâmicas; associadas ao “habitat agrícola”, colonizadoras; com grande capacidade reprodutiva; com variabilidade genética complexa, expressa com biótipos polimórficos (Thill *et al.*, 1991).

Comparadas com outros organismos para os quais também têm surgido situações de resistência a produtos fitofarmacêuticos, as infestantes possuem características específicas que as tornam únicas no seu comportamento relativamente aos herbicidas, tais como a elevada capacidade de produção de sementes, a sua longevidade e a germinação escalonada ao longo do tempo (Gressel & Segel, 1982); aspectos estes determinantes na evolução da resistência. Quanto maior for o sucesso reprodutivo do biótipo R maior é o potencial para se dispersar e se tornar uma parte dominante da população (Gunsolus, 1993). As populações de sementes que entram e saem do banco de sementes do solo, ao longo do tempo, desempenham um papel importante no aparecimento de biótipos R em populações de infestantes (Gressel & Segel, 1982).

Em populações de infestantes que nunca estiveram sujeitas à aplicação de herbicidas, as sementes dos biótipos R que existem no solo encontram-se em proporção muito baixa relativamente às sementes do biótipo S. A aplicação de herbicidas modifica este equilíbrio, aumentando a proporção de sementes do biótipo R no solo. Por outro lado, a população que emergirá destas sementes será apenas uma pequena fracção da descendência produzida pela população seleccionada (Gressel & Segel, 1982). Isto significa que o solo vai constituir um enorme reservatório de sementes, vais exercer um “sistema tampão” regulador da emergência das plantas susceptíveis e resistentes ao longo do tempo (Luis, T.S., 2005).

É neste meio que se tende para o equilíbrio entre biótipos S e R, que a resistência aos herbicidas geralmente se manifesta. (Luis, T.S., 2005).

5.7 SITUAÇÃO DA RESISTÊNCIA AOS HERBICIDAS A NÍVEL MUNDIAL

A resistência aos produtos fitofarmacêuticos de organismos vivos como os insectos, ácaros, fungos, bactérias e infestantes é uma manifestação da selecção natural, evidenciada por Charles Darwin no século XIX, consequência da maior capacidade de sobrevivência e de reprodução dos biótipos mais aptos e melhor adaptados aos factores ambientais predominantes (Amaro, 2003). Este problema é conhecido nos países em desenvolvimento, onde se têm realizado diversos trabalhos de investigação, experimentação e divulgação, com o intuito de orientar os agricultores sobre as medidas a tomar (FAO, 1997).

Ao longo de algumas gerações, submetidas à selecção de repetidos tratamentos com herbicidas, tem-se verificado o aumento progressivo de populações de biótipos resistentes dentro de espécies que antigamente eram consideradas susceptíveis (Radosevich *et al.*, 1997). Como refere Georghios (1986), a presença de resistência era um fenómeno raro nos anos “50”, enquanto nos anos “80”, o que é raro é encontrar população susceptível.

Em 1957 (Hilton, 1957) é constatada, pela primeira vez, a possibilidade de virem a surgir resistências aos herbicidas, à semelhança do que já se verificava com outros produtos fitofarmacêuticos.

O Quadro 5.2 enumera as infestantes resistentes ao glifosato e o ano em que se detectou resistência nas mesmas. A Fig. 5.3 mostra a dispersão a nível mundial dos biótipos resistentes ao glifosato.

Quadro 5.2 - Espécies resistentes ao glifosato e ano em que foram identificadas

Infestantes Resistentes ao Glifosato a Nível mundial		
Espécies	Nome Comum	Ano de identificação da Resistência
<i>Amaranthus palmeri</i>	Bredo	2005
<i>Ambrosia trifida</i>	---	2004
<i>Chloris truncata</i>	---	2010
<i>Conyza bonariensis</i>	Avoadinha Peluda	2003
<i>Conyza canadensis</i>	Avoadinha	2000
<i>Conyza sumatrensis</i>	---	2009
<i>Digitaria insularis</i>	Milhã	2006
<i>Echinochloa colona</i>	---	2007
<i>Eleusine indica</i>	---	1997
<i>Euphorbia heterophylla</i>	---	2006
<i>Kochia scoparia</i>	---	2007
<i>Lolium multiflorum</i>	Azevém	2001
<i>Lolium perenne</i>	Gazão	2008
<i>Lolium rigidum</i>	Erva -febra	1996
<i>Parthenium hysterophorus</i>	---	2004
<i>Plantago lanceolata</i>	Diabelha	2003
<i>Poa annua</i>	Cabelo-de-cão	2010
<i>Sorghum halepense</i>	---	2005
<i>Urochloa panicoides</i>	---	2008

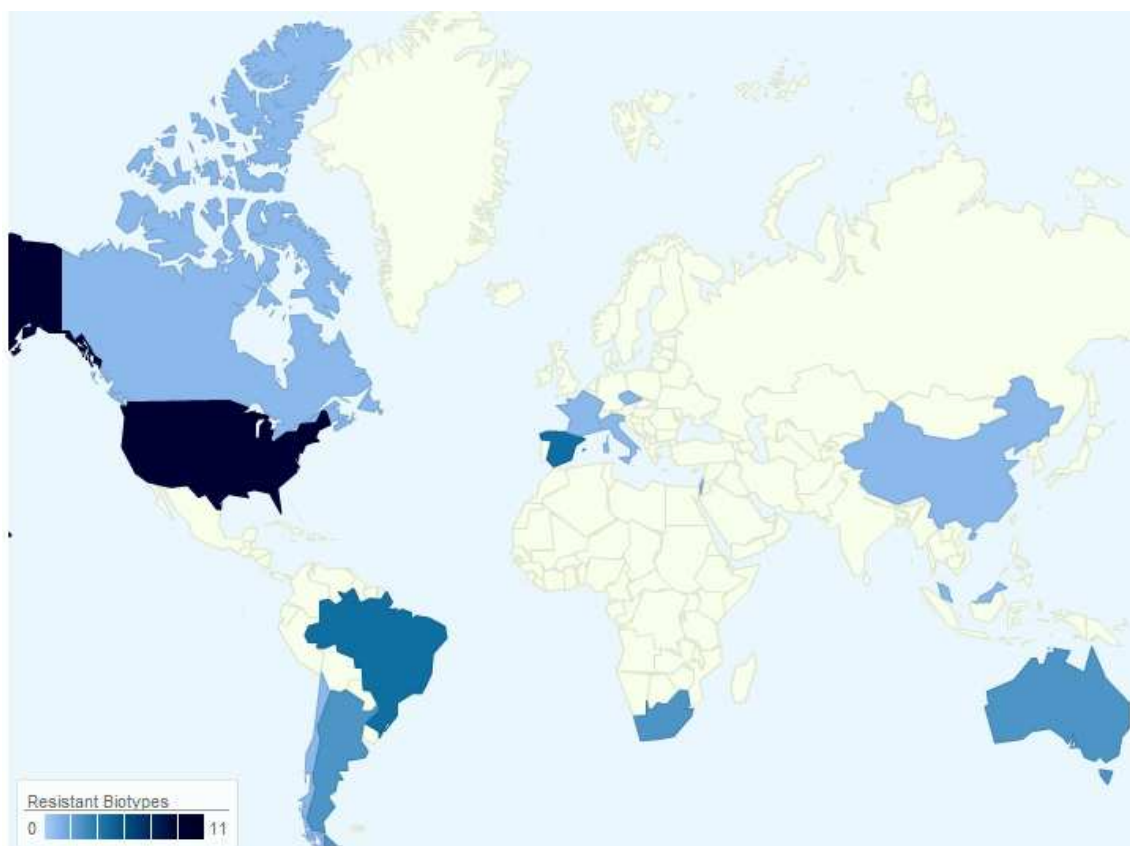


Fig. 5.3 - Representação mundial de países com biótipos resistentes ao glifosato

Fonte: Weedscience, 2010

5.8 SITUAÇÃO ADQUIRIDA AOS HERBICIDAS EM PORTUGAL

Em Portugal cedo se admitiu que o problema da resistência aos herbicidas poderia existir atendendo às práticas agrícolas em uso algumas das nossas principais culturas. Isto tendo em conta que uma elevada pressão de selecção exercida pela aplicação de produtos fitofarmacêuticos poderá conduzir ao aparecimento de biótipos resistentes em algumas espécies de infestantes (Salas, 2001; Calha & Rocha, 2002). Na realidade algumas culturas, pelo elevado número de aplicações de herbicida a que se encontram sujeitas e pela contínua permanência no solo, podem criar um ambiente propício ao aparecimento de biótipos resistentes (Godinho, 1980).

- 1º caso detectado nas sulfonilureias, na cultura do arroz (1999) (Calha *et al.*, 1999)
- 2º caso detectado nas s-triazinas na cultura do milho (2004) (Calha & Rocha *et al.*, 2004)
- 3º caso detectado no propanil, na cultura do arroz (2009) (Calha *et al.*, 2009)
- 4º caso detectado no Glifosato, na cultura do olival (2010) (Calha & Osuma *et al.*, 2010)

Os estudos de resistência começaram noutros herbicidas e só recentemente: 2010 e 2011 se identificou resistência ao glifosato.

5.9 MÉTODOS A PARAA CONFIRMAÇÃO DE RESISTÊNCIAS AOS HERBICIDAS

São vários os métodos que têm sido utilizados para verificar se, perante a falta de eficácia de um herbicida, se está na presença de um caso de resistência adquirida ou se manter falta de eficácia tem outra origem.

O “Herbicide Resistant Action Commitee” (HRAC), têm sido feitas prospecções de biótipos R a herbicidas, a nível mundial, alertando para a necessidade de se proceder à sua confirmação, não tirando conclusões apenas baseadas em observações de campo (Fuers, 1990).

A confirmação da resistência pode ser efectuada através de ensaios realizados no campo, em estufa (plantas em vasos ou com semente em placa de Petri) ou em laboratório.

O método a utilizar poderá ser mais ou menos específico consoante se pretende confirmar a existência de resistência ou se pretende estudar o mecanismo responsável pela resistência (HRAC, 1999). Segundo Moss (1995), os estudos utilizados para a confirmação de resistência são necessários para a implementação de estratégias de controlo da resistência. Por isso, estes devem ser rápidos, precisos e pouco onerosos e devem fornecer indicações de confiança sobre o impacto provável da resistência no campo (HRAC, 1999).

5.10 PRINCÍPIOS BÁSICOS DOS MÉTODOS DE CONFIRMAÇÃO DE RESISTÊNCIA

Os testes de confiança utilizados na confirmação de resistência, são um pré-requisito essencial para a aplicação racional de estratégias eficazes de controlo integrado. Idealmente testes de diagnóstico devem ser rápidos, precisos, baratos, prontamente disponíveis e dar uma indicação confiável do impacto provável de resistência a herbicidas sobre a actividade no campo.

A suspeita inicial de resistência geralmente resulta do controlo insatisfatório de plantas daninhas após uma aplicação de herbicida. Resistência não deve ser considerada de imediato como um caso de resistência a causa, e outras razões devem ser investigadas em primeiro lugar. A resistência deve ser considerada como uma causa possível quando outros factores foram eliminados.

O factor mais importante para determinar facilidade de detecção de resistência é o grau de insensibilidade.

Quando a resistência é absoluta, e um herbicida não tem nenhum efeito visível na dose recomendada, a detecção é fácil. Com resistência parcial, quando alguns efeitos herbicidas são vistos, a detecção é mais difícil, pois a resistência é apenas um dos muitos factores que podem reduzir o desempenho do herbicida. (HRAC, 1999).

Observações de campo

Uma observação precisa no campo é importante para a detecção de qualquer redução na eficácia de herbicidas. Isso pode indicar o desenvolvimento de resistência. No entanto, muitos outros factores, além da resistência, podem ser responsáveis pelo pobre desempenho dos herbicidas. Estes incluem:

- Aplicação de herbicidas: (exemplo, doses inadequadas; defeitos na pulverização);
- Condições de solo: (por exemplo, humidade do solo, qualidade do banco de sementes do solo; adsorção)
- Condições climáticas: (por exemplo, padrões de pluviosidade, temperatura.)
- Factores relacionados com a infestante: (por exemplo, tamanho das infestantes; germinações sucessivas; nível de infestação (muito alta)).

Muitos destes factores podem ser responsáveis pelo desempenho inadequado de herbicidas, muitas vezes é difícil determinar a causa exacta da falha de herbicida no campo. Embora raramente seja possível confirmar a resistência apenas com base na observação de campo e análise de observação de campo e análise de registos de campo, vários factores irão apontar nessa direcção.

Estes são:

O nível de controlo das infestantes e de outras espécies susceptíveis. Se estas tiverem sido controladas eficazmente, então a resistência é uma possibilidade distinta. A presença de plantas vivas adjacentes aos indivíduos eliminados. Isso pode indicar a presença de indivíduos resistentes, embora tais situações podem surgir através de variações em fase de crescimento de ervas daninhas, aplicação incorrecta (HRAC, 1999).

Experiência passada. Se a espécie sobrevivente foi controlada com sucesso pelo mesmo tratamento no passado, sendo que se observa um declínio gradual no controlo nos anos seguintes, a resistência pode ser responsável por este facto.

Histórico da aplicação do herbicida: o uso repetido do mesmo herbicida, ou herbicidas com o mesmo modo de acção, favorece a selecção para resistência

Ocorrência de resistência nas proximidades: Se a resistência for detectada em infestantes na mesma parcela ou em áreas adjacentes, em que estas tenham sido tratadas com o mesmo herbicida, então há uma grande probabilidade de que a resistência seja evidente.

Se existe uma suspeita de resistência, devem ser recolhidas amostras de sementes (ou plantas) junto da população de infestantes para um teste de confirmação da resistência. (HRAC, 1999).

Recolha de sementes

A confiabilidade dos resultados com base em ensaios de planta é largamente dependente da qualidade da amostra de sementes. Sementes de baixa qualidade, muitas vezes, têm uma %de germinação baixa ou produzem plantas débeis com uma resposta variável mediante os herbicidas

Recolha de sementes, quando a maioria está madura. A recolha demasiado cedo ou demasiado tarde é susceptível de conduzir a amostras com baixa viabilidade. Como por exemplo o azevém (*Lolium* spp.), o melhor momento é quando cerca de 20 % das sementes já caíram.

Recolher uma área de pelo menos 100 a 50m dentro da área problemática. É de evitar, obviamente, as áreas não pulverizadas. As amostras deverão ser representativas da parcela ou área onde se detectou o problema, por isso as sementes recolhidas deverão estar divididas por lotes.

A qualidade é mais importante do que quantidade. O objectivo é recolher pelo menos um volume de 250 ml de sementes de infestantes, como o azevém devendo fazer-se conta com as perdas durante a limpeza. A quantidade de sementes para recolha de outras ervas daninhas varia de acordo com o tamanho da semente e facilidade de recolha, mas o objectivo deverá ser a recolha de uma amostra (vários mil sementes) adequada de sementes maduras.

Ter cuidado com aquecimento rápido das amostras recém-colhidas - não se devem guardar em sacos de plástico. As sementes são mais bem guardadas em envelopes de papel para transporte e armazenamento. Etiquetar o envelope com o nome da parcela, e data da recolha.

Secar as sementes em ar seco o mais rapidamente possível após a recolha. Pequenas amostras podem ser secas em envelopes simplesmente agitando o envelope uma vez ao dia. Amostras maiores são melhores secas em bandejas colocadas em local seco, bem ventilado, mas não muito ventoso. A maioria das espécies de sementes deve ser seca dentro de aproximadamente uma semana.

As amostras de sementes devem ser limpas e separadas das de má qualidade. A melhor técnica de limpeza para as amostras variam de acordo com espécie, mas o peneiramento das mesmas pode retirar grandes pedaços de restos de plantas e o fluxo de ar, remove as sementes mais leves (HRAC, 1999).

Ensaio em vaso com plantas inteiras

O teste mais utilizado para a resistência envolve o cultivo de plantas a partir de sementes recolhidas no campo suspeito, e pulverização com herbicidas aplicados tanto em dose única, discriminando um intervalo de doses. Tais ensaios são geralmente realizados numa câmara de ambiente controlado ou em estufa. As avaliações normalmente envolvem avaliações visuais de mortalidade ou do vigor da planta, ou medições de peso verde ou seco de folhagem.

Um componente essencial de todos os testes de resistência é a inclusão de uma população de referência apropriada e susceptível. Padrões susceptíveis devem ser escolhidos com cuidado, para garantir que eles sejam verdadeiramente representativos, e não de forma atípica sensível ou insensível ao herbicida sob avaliação. A inclusão de várias normas susceptíveis é recomendável, especialmente quando a resistência é parcial, já que esta irá fornecer informações sobre as respostas dos herbicidas.

Deve haver cuidado no tratamento estatístico para garantir que o desenho do ensaio e replicação é apropriado. Ensaio que incluem populações com diferentes níveis de resistência, muitas vezes introduzem uma grande quantidade de variabilidade nos dados resultantes (HRAC, 1999).

Ensaio dose - resposta

Em estudos iniciais, é preferível utilizar uma variedade de doses adequadas para obter uma curva de resposta. Isso permite que o grau de resistência a ser calculado seja melhor quantificado através de proporções iguais de modo a demonstrar o mesmo efeito em populações resistentes e susceptíveis.

O rácio dessas estimativas, em relação à de uma população susceptível, fornecer um índice de resistência (IR) que permite que o grau de resistência a seja descrito de forma relativamente simples.

Para obter uma boa estimativa da Dose de eficácia (Effective Dose - ED₅₀) a dose intervalo deve ser relativamente ampla e pelo menos seis doses são necessárias (Fig. 5.4). Geralmente as doses são o dobro da dose anterior no intervalo (por exemplo 10, 20, 40, 80, 160, 320g s.a. ha⁻¹) uma progressão logarítmica. A faixa de doses a utilizar deve incluir doses abaixo e acima da taxa recomendada de campo, isto atendendo a que os herbicidas são normalmente mais activos em condições de estufa. (HRAC, 1999).

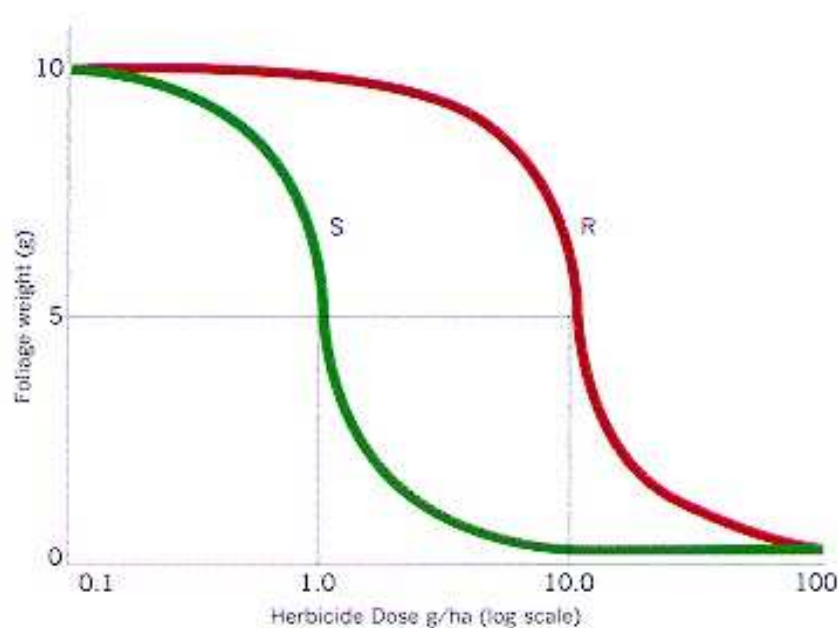


Fig. 5.4 - Curva de dose resposta para populações Susceptíveis (S) e Resistentes (R)
(HRAC Global, 2011)

Ensaio com dose única

Uma vez que informações de dose – resposta forem obtidas, é possível usar uma dose (ou duas ou três), discriminando as doses em futuras aplicações, o que permite que muitas populações possam ser testadas em vasos com populações mais pequenas. Com algumas formas de resistência, como acontece na maioria dos casos de resistência aos herbicidas do grupo das triazinas, a resistência tende a ser absoluta. Nesses casos, a resistência é fácil de identificar e não é crítico a escolha da dose - contanto que elimina as plantas susceptíveis. Quando a resistência é parcial, é necessário mais cuidado na escolha da dose mais apropriada.

O 'ring test', envolvendo 16 organizações em 8 países europeus foi realizado para avaliar a consistência dos testes de triagem de resistência, a fim de melhorar a padronização de procedimentos de teste (Moss *et al.*, 1998). Como consequência deste estudo, foram feitas recomendações que se encontram no ponto a seguir:

Recomendações

Garantir o abastecimento de sementes e limpá-las para remover as sementes de má qualidade. Baixa qualidade, amostras de sementes insuficiente, são factos susceptíveis de resultar em plantas de má qualidade que pode ser mais ou menos susceptíveis aos herbicidas.

Antes da pulverização conseguir plantas bem adaptadas em termos de estágio de crescimento e vigor semeando sementes pré-germinadas ou semeando um número constante de sementes por vaso

Não se deve confiar apenas na irrigação do subsolo porque para os herbicidas residuais (que não é o caso do glifosato) este tipo de rega vai impedir que estes se movimentem para baixo da zona de enraizamento das plantas.

Se um ensaio de dose única for usado, a dose única para o herbicida é susceptível de variar entre os centros de testes individuais e só podem ser determinadas por experimentação preliminar. A actividade herbicida será afectada por inúmeros factores, mas os factores mais importantes são, provavelmente, o nível de matéria orgânica do solo (para herbicidas residuais) e as condições de crescimento (especialmente luz e temperatura).

Uso de populações resistentes e susceptíveis de referência padrão em cada ensaio. Idealmente, centros de teste devem usar diferentes padrões idênticos para cada espécie. Não assuma que todas as populações susceptíveis são igualmente susceptíveis a todos os herbicidas.

Em ensaios de dose única, aponte em atingir uma redução de 85-95% em peso na folhagem verde para populações susceptíveis. Padrões muito altos ou baixos irão reduzir a sensibilidade do ensaio.

Apontar para <50 % de redução no peso folhagem fresca para qualquer padrão resistente. A inclusão de apenas um padrão de alta resistência não vai permitir que a eficácia dos herbicidas relativamente entre ensaios sendo necessários testes subsequentes para ser determinado.

Idealmente o registo do peso verde, como uma avaliação objectiva da actividade herbicida, quando os efeitos do herbicida total são evidentes no padrão susceptível. O tempo entre a pulverização e a avaliação variam de acordo com os herbicidas utilizados, espécies de ervas daninhas e as condições ambientais. Para muitas ervas daninhas e para muitos herbicidas, um período de tempo de três semanas entre a pulverização e a avaliação é o tempo mais adequado para plantas que são mantidas em estufa.

As avaliações visuais podem ser uma alternativa adequada e são certamente muito mais rápidas do que as avaliações do peso verde. Além das avaliações visuais, devem ser registados os pesos da folhagem para populações susceptíveis e resistentes de referência padrão. Estes dados podem ser usados para verificar a precisão das avaliações visuais e a consistência dos resultados entre os ensaios subsequentes.

Independentemente de como o ensaio de rastreio é realizado, a base sobre a qual a resistência é atribuída deve ser indicada. Isto é particularmente importante, onde as populações apresentam resistência marginal ou parcial.

A comparação dos resultados obtidos a partir de centros de teste diferentes deve ser feita com cuidado, especialmente quando a resistência é parcial e não absoluta. A coerência entre os ensaios realizados em qualquer centro de investigação é provável que seja melhor do que entre os centros.

Outras técnicas de diagnóstico

Outras técnicas de diagnóstico têm sido desenvolvidas para a detecção de formas específicas de resistência. Estas incluem vasos com plantas recolhidas em testes de campo, ensaios de germinação em placas de Petri, fluorescência da clorofila e testes de sensibilidade enzimática. Estas técnicas foram revistas por Moss (1995). A maioria dos princípios acima descritos também são relevantes para essas outras técnicas. No entanto, o ensaio em estufa é provavelmente o que se mantém mais apropriado para a avaliação da resistência e do método de aplicação única do herbicida e representando a actividade no campo. Além disso os ensaios em vasos podem ser usados para detectar a resistência, independentemente do mecanismo -um atributo muito importante.

Interpretação dos resultados

É importante ter em consideração que as plantas ou as sementes recolhidas para testes de resistência em geral, representam uma amostra tendenciosa. Como eles são representativos de todo o campo depende do método de amostra sem a proporção de plantas que sobreviveram a um tratamento no campo. Se amostras de sementes foram recolhidas a partir de algumas plantas resistentes sobreviventes, quando a maioria das plantas susceptíveis foram eliminados, então qualquer resultado de teste irá exagerar o grau de resistência actualmente presente na população. Isto não deve ser visto com a limitação de testes de diagnóstico, mas um atributo positivo, pois permite que a resistência seja detectada num estado inicial de desenvolvimento, quando é mais fácil tomar medidas para evitar que a situação piore.

Com os resultados de ensaios dose-resposta, quanto maior o índice de resistência (rácios de ED_{50} valores relativos ao de uma população susceptível), maior o nível de resistência. Índices de resistência pequena podem ocorrer normalmente entre populações susceptíveis, portanto, essas devem ser interpretadas com cuidado, independentemente da significância estatística. Com populações altamente resistente, pode não ser possível obter um valor ED_{50} e assim um índice de resistência pode não ser calculado com precisão.

Quando a resistência é absoluta, a interpretação é relativamente fácil sendo que as plantas ou são susceptíveis (indivíduo resistente) ou morta (indivíduo susceptível) durante um largo intervalo de dose. Quando a resistência seja parcial, a interpretação é mais difícil. As comparações estatísticas, embora essenciais para estudos de investigação, não são necessariamente adequadas aos testes de triagem de rotina.

Como os ensaios de dose única, um sistema de classificação que pode ser usado para atribuir diferentes graus de resistência, sendo que, é um sistema de avaliação que engloba o conceito de graus variados níveis de resistência da população. O sistema original exigiu a inclusão de três populações de referência, mas o sistema de revisão (Clarke, Blair & Moss, 1994) exige a inclusão de apenas duas populações de referência, um resistente e um susceptível, que estão incluídos em cada teste.

Os resultados dos ensaios de triagem da resistência devem estar relacionados como desempenho dos herbicidas nas áreas de amostra. Então torna-se possível usar os resultados dos testes de diagnóstico para prever, pelo menos até certo ponto, o provável impacto da resistência sobre o desempenho dos herbicidas noutros lugares.

Ensaio de campo

Na prática, um ensaio de campo para a confirmação de resistência é um ensaio de eficácia com algumas modificações. Podem ser seguidos, para cada cultura, os “guidelines OEPP” específicos (OEPP, 2004), todavia poderão existir algumas particularidades nestes ensaios como por exemplo a gama de doses em estudo e a presença do biótipo S como referência.

A experimentação realizada no campo apresenta a vantagem de se realizar na área suspeita de haver resistência mas, em contrapartida, a cultura pode ficar comprometida, uma vez que os resultados de eficácia não se podem comparar com um biótipo S conhecido. Além disso, é difícil controlar outros factores que possam afectar a eficácia do herbicida. Para a realização destes ensaios, é sempre necessário dispor de parcelas testemunha. A eficácia do herbicida sobre o biótipo S (expressa em percentagem), crescendo nas mesmas condições do que o R numa parcela de terreno vizinho (parcela testemunha) é comparado com uma eficácia no biótipo R (Meireles, 1988; Fuerst, Maigre, 1990).

Também podem ser tomados em consideração sintomas provocados nas plantas, designadamente atrasos no desenvolvimento, descolorações e/ou necroses. É necessário também ter em consideração que estes ensaios não permitem identificar o modo de acção do herbicida, nem mesmo o grau de desempenho que é devido à resistência (Moss, 1995).

Ensaio de estufa

O “Herbicide Resistant Action Committee” (HRAC) ao propor o plano de ensaio em vasos com plantas inteiras para confirmação da resistência, sugere que os ensaios decorram em condições de ambiente controlado (estufa ou câmara de crescimento) com plantas obtidas a partir de semente.

Na altura da aplicação do herbicida o estado fenológico das plantas deve ser entre 2-3 folhas e o herbicida deve ser aplicado num mínimo de quatro doses: 1/2X, X, 2X, 4X, em que X corresponde à dose de aplicação recomendada. Através da aplicação de doses crescentes de herbicida e da aplicação do seu efeito sobre determinado parâmetro de crescimento da planta, é então possível determinar o valor do ED₅₀ (Radosevich & Appleby, 1973; Hatzios, 2001).

Moss (1995) e Streibig *et al.*, (1995) recomendam um mínimo de seis doses e um mínimo de três repetições. O período de tempo que decorre desde a manifestação dos primeiros sintomas de toxicidade até à morte das plantas depende das condições ambientais em que decorre o ensaio, podendo a avaliação ser efectuada 4-5 semanas após a aplicação do herbicida, através de observação visual e, se possível, com determinação dos pesos verde e seco. No final, estima-se a percentagem de eficácia do biótipo R e S em comparação com a testemunha (HRAC, 1999).

A via mais utilizada para a confirmação da resistência é a que utiliza ensaios com plantas obtidas a partir de sementes e que se desenvolvem em estufa ou câmaras de ambiente controlado (HRAC, 1999). As plantas desenvolvem-se em vasos com terra ou com substratos nutritivos e são sujeitas à aplicação dos herbicidas a testar, em determinadas doses, mais habitualmente, numa ampla gama de doses. Naturalmente que incluem sempre uma população susceptível de referência (Moss, 1995).

Ensaio de estufa para a confirmação de resistência aos herbicidas foram realizados pela primeira vez por Ryan (1970) Aplicou o glifosato em plantas de *Conyza canadensis* desenvolvidas a partir de sementes, colhidas em campos suspeitos de possuírem biótipos R, utilizando doses que iam desde a recomendada (2L ha^{-1}) até (10L ha^{-1}).

A eficácia do herbicida pode ser avaliada através da observação do vigor da planta, de sintomas, aos quais se atribuem valores segundo uma escala de referências (OEPP, 1998), ou através de parâmetros quantitativos, como sejam a percentagem de mortalidade e a determinação do peso seco e do peso verde (Lopes, 1986; Moss, 1995; Prates, 1996).

Pode também ser utilizada uma dose única. Neste caso, a escolha dessa dose é crítica para situações em que a resistência é parcial, isto é, quando a resistência não é absoluta e o nível de controlo pode variar nitidamente com a dose e entre populações (Moss, 1995). É preferível a utilização de uma gama de doses de modo a obter-se uma curva dose-resposta, permitindo assim a determinação do nível de resistência.

Prates (1996) ao avaliar o efeito do herbicida bensulfurão-metilo em plantas de biótipos R e S de *Alisma plantago aquatica*, atribuiu uma estimativa de fitotoxicidade de acordo com valores de uma escala que compreendia várias classes (OEPP, 1994): classe 1 (0% da planta afectada), classe 2 (< 10% da planta afectada); classe 3 (10% a 25% da planta afectada); classe 4 (25% a 50% da planta afectada) e classe 5 (50% a 100% da planta afectada).

Este tipo de ensaios apresentam aspectos positivos, pois admitem simular, o mais aproximadamente possível, as condições de campo, e o estudo em simultâneo de um elevado número de plantas. Este último aspecto é importante quando se pretende efectuar uma rápida triagem de populações provenientes de várias regiões, bastando para isso que se faça uma aplicação simultânea sobre todas as plantas a testar. Além disso, é um método de comparação com o de laboratório (Truelove & Hensley, 1982).

Porém, a sua maior limitação encontra-se relacionada com a colheita de sementes que possam apresentar dormência, o que conduz à lentidão na obtenção de resultados (Moss, 1995), sendo também muito trabalhosos e exigindo grande disponibilidade de espaço (Truelove & Hensley, 1982). Os mesmos autores referem, ainda que este tipo de ensaios não permite determinar o mecanismo de resistência, o que pode ser uma vantagem, uma vez que é um método que se pode aplicar a qualquer tipo de resistência, independentemente do mecanismo responsável.

O herbicida pode ser aplicado directamente ao solo antes de proceder ao envasamento ou numa solução nutritiva (Radosevich & Appleby, 1973).

No caso de serem realizados ensaios em placa de Petri, bem-sucedidos com herbicidas do grupo químico das glicinas, as sementes germinam e desenvolvem-se em papel de filtro ou em agar na presença de herbicidas, sendo os parâmetros de avaliação o comprimento da raiz ou do epicótilo, após 1-3 semanas. Este tipo de ensaios ocupa menos tempo e espaço do que os ensaios em estufa, contudo, não são aplicáveis a todos os tipos de resistência.

A interpretação dos resultados deve ser feita com cuidado, atendendo a que os herbicidas são aplicados em condições completamente diferentes das do campo; outra grande limitação pretende-se com a dormência das sementes, que pode não compensar o uso desta técnica. (Luís, T.S. 2005)

Além disso é necessário proceder sempre à sua validação através da comparação dos resultados obtidos em placa de Petri com os de ensaio em vaso com planta inteira.

Ensaio de laboratório

Os métodos referidos anteriormente (ensaio de campo e estufa) apesar de serem importantes para a detecção de biótipos R, raramente fornecem informações definitivas sobre a natureza do fenómeno que causa a resistência, daí ser necessário recorrer a métodos mais sofisticados que detectem o mecanismo bioquímico e fisiológico responsável pela resistência.

Métodos directos

- Ensaio de actividades da enzima –alvo
- Ensaio para detecção de mutação no gene que codifica a enzima –alvo
- Ensaio com isótopos radioactivos para detectar alterações na absorção, translocação e metabolismo
- Ensaio para detectar sobreexpressão de genes

Métodos indirectos

- Ensaio de fluorescência da clorofila – translocação do glifosato
- Ensaio com inibidores do metabolismo – metabolismo de sulfonilureias
- Teste do chiquimato – mutação no gene da enzima EPSP sintetase

PARTE II – AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA AO GLIFOSATO

1 INTRODUÇÃO

O objectivo deste estudo consistiu em verificar/avaliar a existência de resistência e em determinar o nível de resistência (NR) ao glifosato, em populações de *Conyza canadensis* recolhidas em diferentes olivais do Alentejo. Para o efeito, realizou-se um ensaio de dose-resposta àquele herbicida.

O ensaio de dose-resposta ao glifosato, permitiu obter uma resposta gradual das plantas a uma gama de doses de herbicida; sendo que o ensaio definitivo permitiu determinar o valor de ED₅₀ para cada população. Estes ensaios foram realizados Instituto Nacional de Recursos Biológicos (INIA/INRB I.P) sediados em Oeiras - Fig. 1.1.



Fig. 1.1 - Aspecto do interior da estufa onde decorreram os ensaios (Dra. Isabel Calha, 2011)

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL VEGETAL

Foram estudadas três populações de *Conyza spp* (Quadro 2.1). uma susceptível (S) e duas suspeitas de serem resistentes (B3 e C) ao glifosato (sal de isopropilamónio).

As sementes foram colhidas em 2010, provenientes de olivais do Alentejo (Ferreira do Alentejo), onde se fizeram tratamentos com glifosato durante pelo menos 5 anos seguidos.

Quadro 2.1 - Material vegetal utilizado no ensaio definitivo

ID	Propriedade	Localidade	Data colheita	Espécie
S	Valas	Ferreira do Alentejo	Agosto 2010	<i>C. canadensis</i>
B3	Abegoaria		Novembro 2010	
C	Canhestros		Outubro 2010	

Para obter plantas em quantidade suficiente e num estado de desenvolvimento uniforme, as sementes foram colocadas a germinar directamente sobre o substrato de terra: turfa: areia (2:1:1) e quando atingiram o estado de 2-4 folhas verdadeiras foram transplantadas para local definitivo, em vaso. (Fig. 2.1)



Fig. 2.1 - Germinação, emergência e plântulas de *Conyza spp*. prontas para o transplante
(Dra. Isabel Calha, 2011)

2.2 APLICAÇÃO

Antes da aplicação do herbicida, foi feita uma monda por vaso, de forma a uniformizar o número de plantas por vaso: 3. No dia da aplicação as plantas estavam no estado fenológico ("Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt and Chemical industry) de BBHC 19/114 a 19/118 (população S); BBHC 142 a 149 (população B3) e BBHC 123 a 133 (população B3) (ver quadro BBHC no Anexo IV).

No Quadro 2.2 apresenta-se o herbicida utilizado nos ensaios de dose-resposta, com a identificação e composição do produto comercial utilizado, bem como a dose recomendada no rótulo, ou dose normal, representada por N, para controlar infestantes anuais como *Conyza* spp. A dose recomendada em protecção integrada é mais reduzida, 360 g/ha s.a.

Quadro 2.2 - Herbicida utilizado no ensaio de dose-resposta

Produto		Teor em s.a. (g L ⁻¹)	Tipo de Formulação	Dose N	
Comercial (p.c.) (empresa)	Substância activa (s.a.)			s.a. (L ha ⁻¹)	p.c. (L ha ⁻¹)
Roundup Ultra (Bayer)	Glifosato	360	Solução aquosa (SL)	2-10	2-4

O glifosato foi aplicado numa gama de sete doses: 0, 180, 360, 720, 1440, 2880 e 5660 g ha⁻¹ (Fig. 2.2) e com quatro repetições. As soluções foram preparadas, no laboratório, por diluição a partir da solução mãe correspondente à dose mais elevada (Quadro 2.3). O delineamento experimental do ensaio, com seis modalidades e quatro repetições, foi totalmente causalizado.



Fig. 2.2 - Preparação das soluções no laboratório da INIA/INRB

Solução de $H_{n+1} = 25\text{ml Sol } H_n + 25\text{ ml H}_2\text{O}$ destilada

Quadro 2.3 - Preparação das soluções num volume de 100ml

Solução	Dose	Concentração	Sol H_n (ml)	H ₂ O (ml)	Volume (ml)
H6	8N	5760	16 ml p.c.	100	50 + 50
H5	4N	2880	50 ml H6	50	50 + 50
H4	2N	1440	50 ml H5	50	50 + 50
H3	N	720	50 ml H4	50	50 + 50
H2	1/2N	360	50 ml H3	50	50 + 50
H1	1/4N	180	50 ml H2	50	100
H0	0	0	0	50	50

Mediu-se a quantidade necessária do produto comercial para preparar 100ml de solução-mãe e prepararam-se as diluições num volume de 50ml, de acordo com a seguinte expressão:

$$V_f \times C_f = V_i \times C_i$$

Em que V_i corresponde, ao volume a retirar de solução-mãe da concentração inicial (C_i) para preparar 50ml (V_f) da diluição de concentração final (C_f) (Quadro 2.4).

Quadro 2.4 - Calibração do equipamento OPS

Solução	Volume Inicial	Volume Final	Volume Gasto
H6	50	46.5	3.5
H5	25	19.5	5.5
H4	25	18.5	6.5
H3	25	19	6
H2	25	19.5	6
H1	40	34	6
H0	38	32	6

A aplicação dos herbicidas foi feita com um pulverizador de jacto OPS (Oxford Precision Sprayer), à pressão de 200kPa (2bar), com o bico defenda com um ângulo de 110° (Fig. 2.3).



Fig. 2.3 - Aplicação com um pulverizador de jacto Oxford Precision Sprayer (OPS)

2.3 DESENVOLVIMENTO DAS PLANTAS

Após a aplicação as plantas foram transferidas para uma estufa quando a calda existente das nas folhas secou. Registou-se a distribuição, aleatória, dos vasos no compartimento (anexo IX) e procedeu-se à rega sempre que necessário.

As condições de crescimento foram mantidas o mais uniformemente possíveis, não obstante as dificuldades inerentes a um trabalho realizado em ambiente não controlado.

Efectuaram-se observações semanais das plantas até ao fim de cada ensaio (Quadro 2.5), tendo-se registado os principais sintomas resultantes da aplicação dos herbicidas. De seguida procedeu-se ao corte das plantas e à determinação do peso verde (g), isto depois de 21 dias após a aplicação (DAA) do herbicida de sistémico (glifosato). 24 horas antes desta operação deixou-se de regar as plantas.

No decurso do ensaios a temperatur avariou entre 23°C de dia e 20 °C de noite, para o período diurno e nocturno.

Quadro 2.5 - Cronograma dos ensaios de dose-resposta a herbicidas

Ensaio	Data de Sementeira	Data de Transplante	Data de aplicação	Idade das plantas (dias)	Fim do ensaio	Duração total do ensaio (dias)	Temperatur a média no período do ensaio (°C)
Glifosato							
Ensaio 1	18 Abril	2 Maio	20 Junho	63	11 Julho	83	25

Procedeu-se ao nivelamento da balança antes de cada pesagem. Colocou-se o vidro de relógio e determinou-se a tara. Cortaram-se as plantas à superfície do solo e determinou-se o peso verde (g) até à centésima. Em anexo encontram-se descriminados o material e os equipamentos utilizados para os ensaios de dose- resposta a herbicidas (Anexo I)

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

Aos resultados obtidos aplicou-se análise de variância (ANOVA). Sempre que a ANOVA revelou diferenças significativas ($p < 0.05$) procedeu-se à comparação de médias, de acordo com o teste da mínima diferença significativa (MDS) para um nível de significância de 5% (STATSOFT, 1995).

Para a análise das curvas dose-resposta a determinação do valor de ED_{50} para a substância activa em estudo, recorreu-se à regressão não linear, utilizando o modelo log-logístico (Streibig, 1992) com a seguinte expressão:

$$Y = c + \frac{d - c}{(1 + \exp[b(\log(x) - \log(I_{50}))])}$$

Em que y corresponde ao peso verde (g) e d , c , b e I_{50} são parâmetros do modelo, designadamente: d corresponde à assíntota superior (valor máximo do peso verde (g) das plantas na testemunha); c corresponde à assíntota inferior (valor mínimo do peso verde (g) das plantas na dose mais elevada); b o declive da curva à volta do ponto de inflexão, e I_{50} o ponto de inflexão (correspondente ao \log (dose)) que provoca a redução de 50% no peso verde relativamente à testemunha) (Bates & Watts, 1988). Este modelo log-logístico tem como vantagens o facto de todos os parâmetros terem significado biológico, daí poderem ser medidos e, ainda, ser possível estimar o valor de ED_{50} a partir dos valores de I_{50} (Seefeldt *et al.*, 1995). O nível de resistência (NR) é determinado pela expressão:

$$NR = \frac{ED_{50} (R)}{ED_{50} (S)}$$

As curvas de regressão obtidas, para cada substância activa estudada, foram transformadas em \log (dose) ($g\ ha^{-1}$).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos valores obtidos de peso verde (g) nas populações B3 e C e S (susceptível ao glifosato) de plantas de *C canadensis*, determinou-se a resposta à dose de glifosato. Em geral, as três populações (S, B3 e C) tiveram um desenvolvimento rápido e com pouca diferença em termos de uniformidade entre as mesmas.

3.1 ENSAIOS DE DOSE RESPOSTA AO GLIFOSATO

No Quadro 3.1, apresentam-se as médias do peso verde das três populações em estudo (S, B3 e C) e os resultados da aplicação da ANOVA.

Quadro 3.1 - Média do Peso verde (g) das três populações de *C canadensis*

Doses	Peso Verde (g)						
	h0	h1	h2	h3	h4	h5	h6
	0	180	360	720	1440	2880	5760
População S	8,32 a	3,97 b	2,93 b	1,81 b	1,33 b	1,68 b	1,07 b
População B3	17,45 a	11,50 a	11,52 a	10,40 a	2,13 b	1,64 b	1,06 b
População C	6,74 bc	8,72 a	5,05 bc	7,05 ab	2,23 cd	2,87 d	2,67 d

(Valores seguidos da mesma letra, não diferem significativamente ao nível de 5 %)

No quadro 7.7 apresentam-se os sintomas (em %) observados após a aplicação do herbicida em estudo (Quadro 3.2).

Quadro 3.2 - Sintomas de fito toxicidade provocados pelo glifosato, em três populações de *C canadensis* (expressos em % de área foliar afectada)

Doses	Sintomas necróticos (%)						
	h0	h1	h2	h3	h4	h5	h6
	0	180	360	720	1440	2880	5760
População S	0	5	25	75	75-100	80-100	90
População B3	0	0	0-25	10-25	25,50, 100,100	50, 75, 75, 100	80, 100, 100,100
População C	0	5	2.5-5	5	25-50	15, 75, 75, 75	80, 90, 50, 100

Na Fig. 3.1 representam-se as curvas de dose resposta ao glifosato das populações S, B3 e C de *C. canadensis*. Relativamente à população S verificou-se uma redução do crescimento das plantas, traduzida pelo peso verde, com o aumento da dose de glifosato.

Para a população B3, o comportamento da curva de dose resposta, teve uma redução gradual do peso verde (g) mais acentuada do que o verificado nas populações S e C, numa primeira instância, na dose de 180 g ha⁻¹ e numa segunda instancia na passagem das 720g ha⁻¹ (10-25% de necroses) para as 1440 g ha⁻¹ (50-100% de necroses).

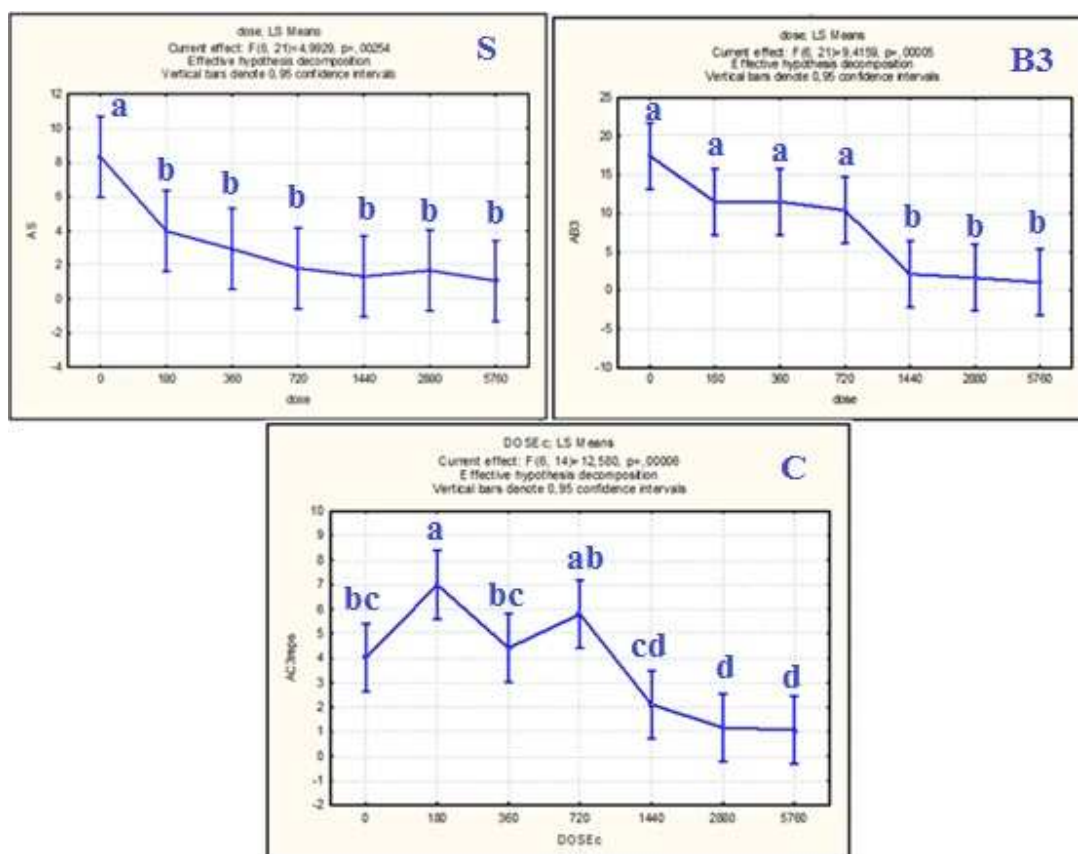


Fig. 3.1 - Curvas de dose resposta (com o intervalo de confiança) de três populações de *C. canadensis*, População susceptível (S) e Populações resistentes (B3 e C)

Apresenta-se abaixo (Fig. 3.2) uma representação conjunta das curvas de dose-resposta das três populações de *Conyza canadensis*, população S, B3e C.

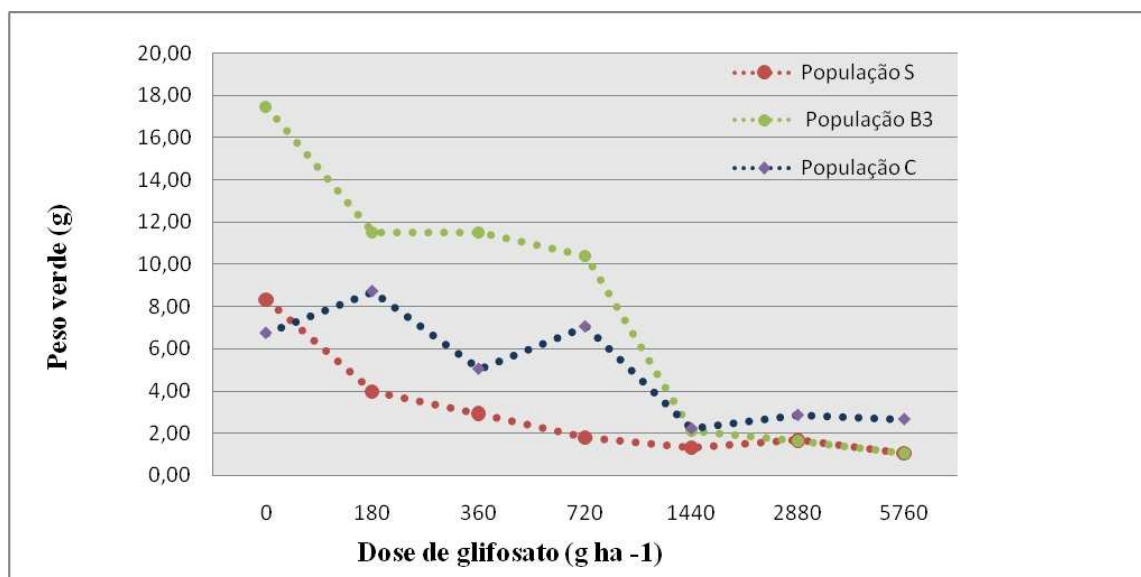


Fig. 3.2 - Curvas de dose resposta de três populações de *C. canadensis*, população S, B3 e C

A população C (Fig. 3.3), apresenta uma redução pouco gradual do peso verde com o aumento da dose de glifosato (em relação às populações B3 e S), este facto pode dever-se à falta de rega nos vasos das plantas da modalidade Testemunha (h0) e do ensaio com as plantas às quais foram aplicadas a dose de 360g ha^{-1} (h2). O facto de os vasos estarem sem água, pode ter levado a que as plantas estivessem mais susceptíveis à aplicação do glifosato.

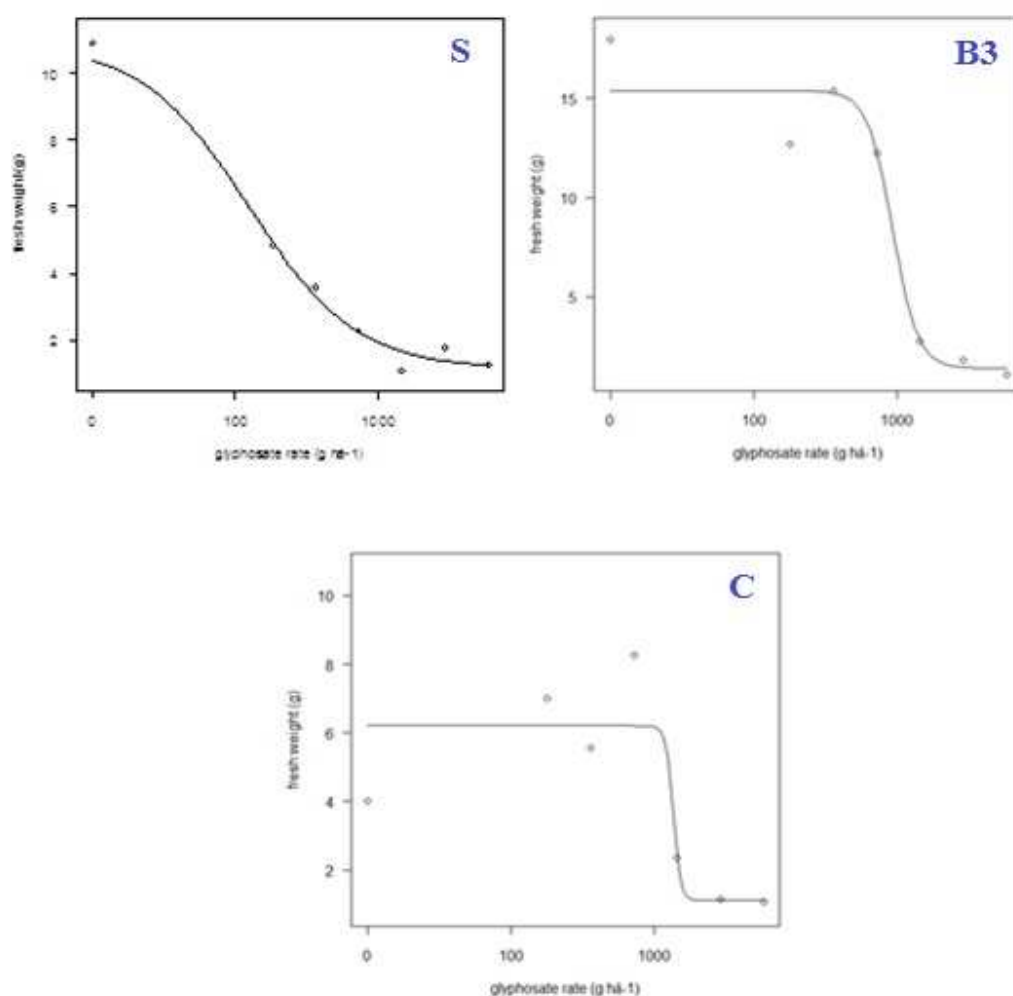


Fig. 3.3 - Curvas de dose resposta de três populações de *C canadensis*, População susceptível (S) e Populações resistentes (B3 e C)

Por fim esta mesma população (população C), apresenta uma redução mais acentuada na dose de 720 g ha^{-1} (25-50 %de necroses) mas não tão acentuada como acontece na população B3.

No Quadro 3.3 apresenta-se o NR (Nível de Resistência) das populações de *C. canadensis*.

Quadro 3.3 - Estimativa do valor de ED_{50} para as populações S, B3 e C de *C. canadensis*.

Biótipos	$g \text{ ha}^{-1}$	SE	NR
			$\frac{ED_{50} (R)}{ED_{50} (S)}$
S	129,6	88,64	1
B3	934,4	1429,71	7.2
C	1030,9	2081,27	7.95

ED_{50} – dose que provoca uma redução de 50% no crescimento da planta, relativamente à testemunha

A dose que provocou uma redução no crescimento da planta em 50% (quadro18), relativamente à testemunha (população S, 129,6g ha⁻¹), para a população B3, foi de 934,4g ha⁻¹, apresentando assim um nível de resistência (NR) de 7. No entanto, dada a variabilidade encontrada não foi possível determinar com exactidão o valor do NR, sendo que o valor de ED₅₀ para a população C (mediante a estimativa ED₅₀) foi de 1030,9g ha⁻¹.

Na Fig. 3.4 - Gradiente de resposta à dose de glifosato na população S após 21 dias, é possível observar o gradiente de resposta à dose de glifosato nas populações S de *C. canadensis* ao longo de 21 dias.

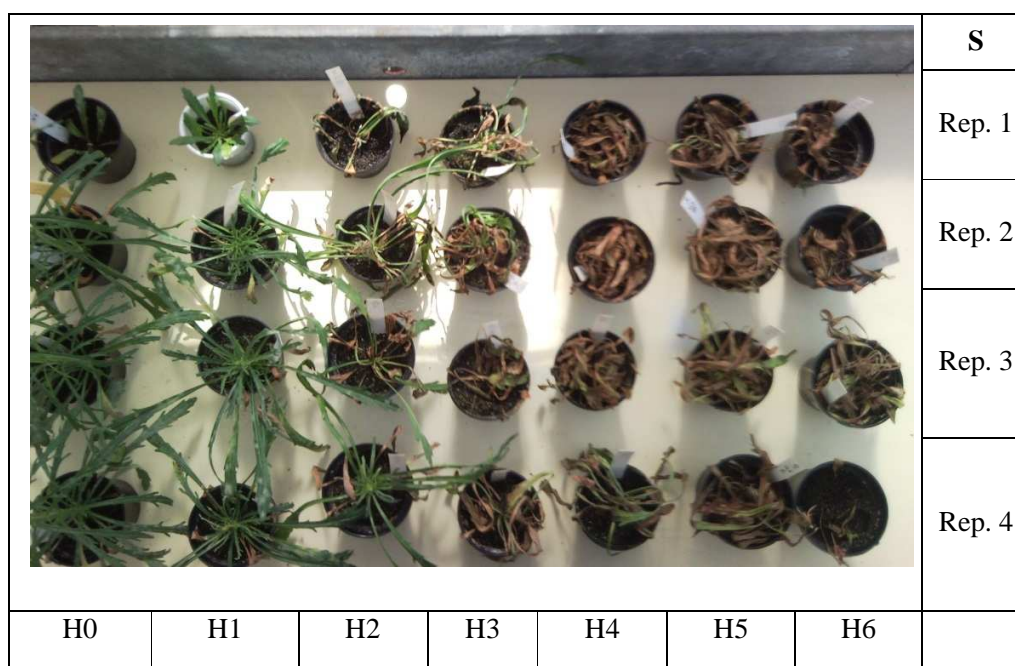


Fig. 3.4 - Gradiente de resposta à dose de glifosato na população S após 21 dias

No final dos 21 dias, para a população S (susceptível), pôde-se observar que o herbicida controlou grande parte das infestantes no ensaio, nomeadamente a partir de H1 (180g ha⁻¹), à qual se vão observando os efeitos da actuação do herbicida de forma mais intensa até H6 (5760g ha⁻¹).

Na Fig. 3.5 - Gradiente de resposta à dose de glifosato na população B3 após 21 dias, é possível observar o gradiente de resposta à dose de glifosato nas populações B3 de *C. canadensis* ao longo de 21 dias.

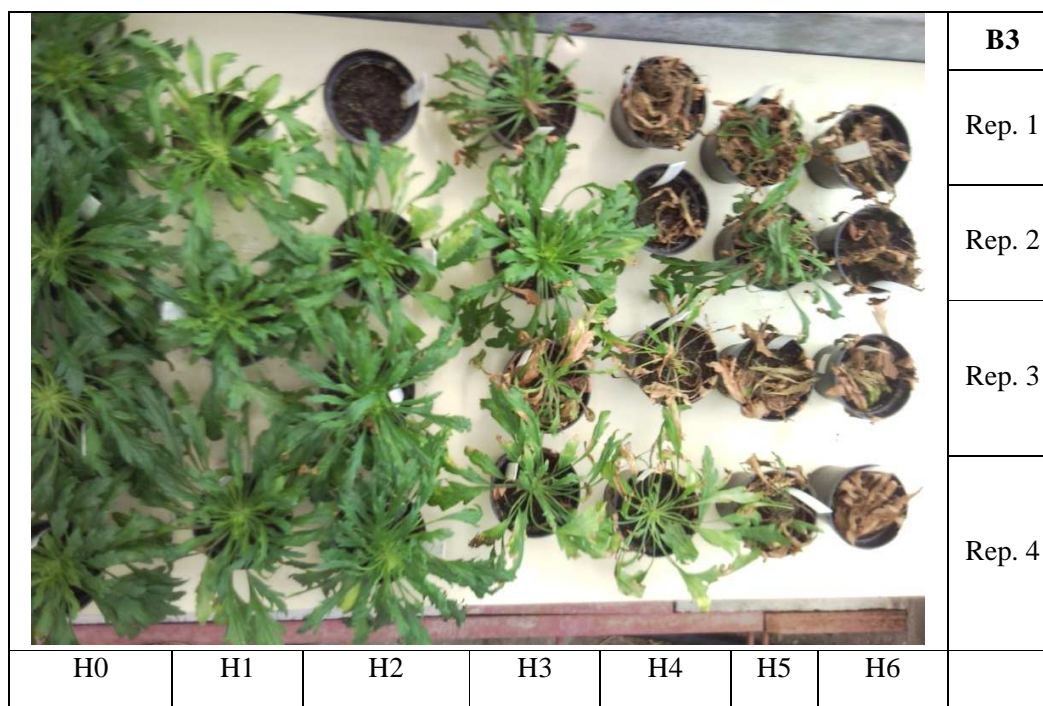


Fig. 3.5 - Gradiente de resposta à dose de glifosato na população B3 após 21 dias

No final dos 21 dias, para a população B3 (resistente), pôde-se observar que o herbicida não controlou tão bem as infestantes como na população S. Os efeitos do herbicida começam a manifestar-se com mais intensidade a partir de H4 (720g ha⁻¹) até H6 (5760g ha⁻¹).

Na Fig. 3.6 - Gradiente de resposta à dose de glifosato na população C após 21 dias, é possível observar o gradiente de resposta à dose de glifosato nas populações C de *C. canadensis* ao longo de 21 dias.

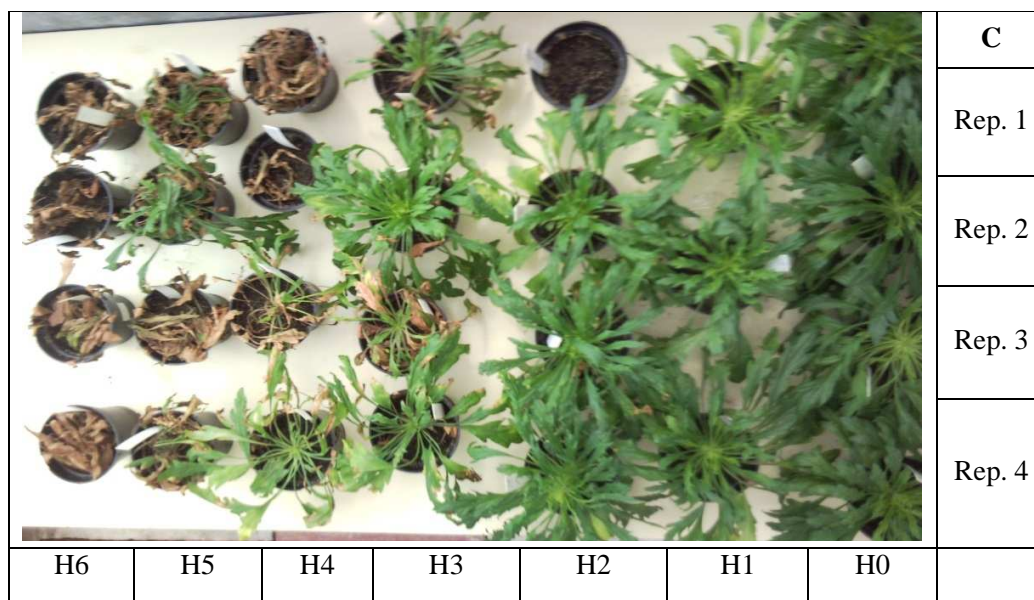


Fig. 3.6 - Gradiente de resposta à dose de glifosato na população C após 21 dias

No final dos 21 dias, para a população C (resistente), pôde-se observar que o herbicida não controlou tão bem as infestantes como na população S. Os efeitos do herbicida começam a manifestar-se com mais intensidade a partir de H3 (360g ha⁻¹) H4 (720g ha⁻¹).

4 CONCLUSÕES

Nos ensaios de dose-resposta aos herbicidas, para se proceder à determinação da resposta à dose de glifosato nas populações S, B3 e C de *C. canadensis* e para se averiguar a existência ou não de resistência ao herbicida em estudo.

Foi confirmada a resistência ao glifosato na população B3 de *C. canadensis* ($ED_{50} = 129,6g\ ha^{-1}$ e $NR = 7$), sendo que na população C (e embora os resultados não sejam claros devido ao facto das plantas não terem crescido da mesma maneira que nas restantes populações e logo apresentarem um comportamento diferente perante a acção do herbicida) existe uma tendência para a manifestação de resistência, visto que os resultados apontam para um ED_{50} na ordem dos $934,4g\ ha^{-1}$.

Outro aspecto que importa também referir resume-se no facto de que da dificuldade que houve em obter um número uniforme e homogéneo de plantas, dado que estes ensaios decorrerem em estufa, onde as condições de crescimento foram mantidas o mais uniformes possíveis, embora não pudessem ser totalmente controladas. Assim, a falta de homogeneidade das plantas de *C. canadensis* aquando da aplicação dos herbicidas, terá sido um dos factores que conduziu à obtenção de resultados não esperados, como por exemplo no ensaio com a população C, em que algumas plantas após serem observadas à lupa verificaram-se ser de *C. bonariensis*, outro caso centrou-se na falha de umas regas antes da aplicação do herbicida o que provocou oscilações no peso verde da mesma população.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O sucesso na prevenção, controlo e gestão da resistência adquirida por infestantes a herbicidas depende da estratégia a implementar ser praticável e claramente compreendida pelos agricultores. Na falta de tal entendimento, quaisquer medidas de prevenção são de importância secundária para o agricultor já que o seu principal objectivo consiste na maximização do lucro e na diminuição da variabilidade do seu rendimento (Avillez *et al.*, 2004). Para ultrapassar estas dificuldades, os serviços oficiais têm um papel a desempenhar na informação a prestar ao agricultor sobre os beneficiados uso responsável dos produtos fitofarmacêuticos (EPPO, 1994). Neste quadro, o agricultor tem um papel muito importante a desempenhar na localização de focos de resistência, contribuindo para a erradicação desses focos e evitando a sua disseminação, através de um plano específico de controlo da resistência (O'keeffe., *et al.*, 1993). Para tal, o agricultor deve conhecer as infestantes dos seus campos, seguir as instruções de aplicação indicadas nos rótulos dos produtos fitofarmacêuticos, estar atento a quaisquer alterações na vegetação espontânea e na densidade das populações e efectuar registos das técnicas de protecção realizadas (incluindo os herbicidas aplicados) seja bem caracterizado e conhecido (HRAC 1995a).

Assim como base nos conhecimentos actuais, a melhor estratégia a seguir para minorar o problema da resistência consiste na elaboração de um planeamento das práticas agrícolas, a longo prazo e não apenas anual, que integre vários meios de luta, incluindo, naturalmente os herbicidas (ANIPLA, 2001). De facto, situações que combinem o uso frequente dos herbicidas com modo de acção idêntico constituem o factor de risco mais importante para a ocorrência de resistência. As técnicas culturais ou programas de luta que quebrem esta prática são a base de uma boa estratégia de prevenção e de luta contra aquele fenómeno, em que a chave para a solução do problema está, pois, em diversificar a pressão de selecção sobre as infestantes, mantendo a eficácia em níveis considerados aceitáveis. Tal requer planificação e integração dos vários meios de combate às infestantes (Calha & Rocha, 2004a).

Um dos principais objectivos de controlo de infestantes deve ser integrada para tentar impedir o aparecimento da resistência ao glifosato. No entanto, em caso de insucesso, é vital que a resistência a herbicidas seja detectada o mais cedo possível para que as estratégias de gestão da resistência possam ser implementadas. Se a resistência se torna aguda, então as opções de controlo são mais limitadas e maiores serão os encargos. Por isso, é essencial que os testes de resistência sejam conduzidos correctamente com resultados obtidos confiáveis e significativos. (HRAC, 1995 b)

Antes que se verifique falta de eficácia provocada por resistência adquirida pelas infestantes devem seguir-se algumas medidas básicas que permitem minimizar os riscos de resistência. Segundo Calha (2011), as principais medidas preventivas são:

- Manter um registo anual das operações culturais, dos herbicidas e doses aplicadas e da eficácia atingida;
- Evitar que as plantas (infestantes) produzam sementes;
- Recorrer a diferentes métodos para o controlo das infestantes (enrelvamento da entrelinha, corte das plantas, aplicação de herbicidas)

No caso específico do Olival (DGADR 2011), sabe-se que a diversidade da flora infestante na altura da aplicação é ampla. Pelo que, para obter os melhores resultados, recomenda-se aplicar herbicidas mistos ou proceder à aplicação sequencial de herbicidas.

Na hora da escolha do herbicida e no caso do glifosato, devem -se ter em conta as seguintes recomendações (DGADR 2011):

Não aplicar herbicidas com glifosato mais do que um ano seguido;

Reduzir o número de aplicações de glifosato a uma vez por ano;

No mesmo ano e em anos seguidos fazer alternância de herbicida com modo de acção (MOA) diferente do glifosato;

Aplicar de preferência herbicidas mistos, com as seguintes características:

- s.a. com diferente modo de acção;
- s.a. com persistência semelhante;
- s.a. com o mesmo espectro de acção.

Antes de fazer misturas extemporâneas com glifosato, confirmar se não existe incompatibilidade entre s.a. (expo: a mistura extemporânea de glifosato (sal de amónio) com oxiflurfena, utilizar apenas a dose de produto comercial recomendada para a situação);

Optimizar as condições de aplicação de herbicidas de pós-emergência:

- A aplicação dever ser feita sobre planta jovens, utilizando a dose recomendada;
- Adaptar o volume de calda à densidade da folhagem.

Caso a resistência seja confirmada, o agricultor deverá, como aliás já se referiu anteriormente, eliminar a infestante evitando que esta chegue a produzir sementes. A resistência também pode controlar através de técnicas culturais, como foi demonstrado por Radosevich *et al.*, (1991) e em ensaios de adaptabilidade do biótipo S em relação ao biótipo R. Estes aurores propõem manter faixas de infestantes não tratadas, para permitir a sobrevivência de infestantes susceptíveis nos campos, para que estas entrem em competição com o biótipo R. Caso a adaptabilidade dos dois biótipos seja semelhante, a resistência deve diminuir lentamente (a competição com outras espécies, por exemplo culturas, poderá ajudar). Contudo, estas práticas requerem que se reavalie o impacto das infestantes nas culturas, não esquecendo que os níveis óptimos de controlo das infestantes nas culturas só são atingidos quando são considerados os benefícios e os custos de tal intervenção.

Para os mesmos autores uma outra via para ultrapassar o fenómeno da resistência é o desenvolvimento de investigação com vista a desenvolver novas moléculas que não exibam resistência. Contudo, esta prática é muito dispendiosa, e torna-se difícil para os agricultores a adaptação às novas técnicas.

Assim sendo, perante a identificação da resistência, em países onde se verifica tal realidade, devem ser postas em prática orientações e medidas adequadas, a par das outras de carácter preventivo do seu aparecimento, porventura provenientes de empresas de herbicidas fabricantes de substâncias activas.

Estas medidas podem incluir restrições no número máximo de aplicações, reduções de dose, utilização em misturas; alternância com substâncias activas de diferentes modos de acção aplicados de modo a reduzir o risco de resistência cruzada ou múltipla (Calha, 1993; Amaro, 2003).

Perante esta realidade, a Produção Integrada surge como uma resposta viável na temática da resistência aos herbicidas; visto que prevê uma regulação racional e integrada do uso de herbicidas (número máximo de aplicações, reduções da dose, utilização em misturas; alternância com substâncias activas de diferentes modos de acção).

No presente trabalho realizado, chegou-se à conclusão que no caso do glifosato aplicado em populações de *C. canadensis*, induziu resistência às mesmas por selecção aos biótipos susceptíveis.

Todas as medidas concretas de meios de luta tomadas contra biótipos R passam pela gestão integrada dos sistemas culturais e por um enorme esboço de integração de valores humanos empenhados, sem hesitações, na protecção das plantas (ANIPLA, 2001), daí que a detecção atempada da resistência e a sua monitorização regular seja altamente vantajosa. Assim, todas as orientações devem ser evidenciadas com a prática da Produção Integrada, hoje amplamente aceite até por ser evidente que esta estratégia pode reduzir, e /ou adiar, a resistência aos herbicidas, não esquecendo ainda que o recurso, sempre que possível, à luta biológica e à presença dos auxiliares pode minimizar a necessidade de recurso aos herbicidas, reduzindo assim o risco de resistência (Amaro, 2003).

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

As conclusões acima apresentadas marcam não o fim, mas apenas o início dos estudos referentes à indução de resistência por parte do glifosato, no caso particular da *C. canadensis*.

Esses trabalhos futuros, deverão partir das conclusões tiradas deste trabalho e leva-las a um nível de maior complexidade, na demanda pela identificação e compreensão dos mecanismos específicos adoptados pelos biótipos resistente da espécie *C. canadensis*.

Sendo assim, ficam algumas perguntas que deverão ser respondidas nos trabalhos futuros:

- Que mecanismos físico-químicos estão presentes na interacção glifosato- infestante (*C. canadensis*.) que induzem a selecção de biótipos resistentes?
- Como é que funcionam os mecanismos de perda se sistemiza num biótipo resistente de *C. canadensis*?

7 BIBLIOGRAFIA

- Calha IM & Osuma et al.**, Herbicide weed resistance in portuguese olive groves.
[Conferência] // 21st COLUMA Conference, International Meeting on Weed Control. / ed.
AFPP. - Dijon, França : [s.n.], 2010.
- DGADRE e INRB**, Manual de Produção Integrada [Livro]. - [s.l.] : DGADRE e INRB,
2009.
- AAPIM [Online]. - 11 de 2010. - http://www.aapim.com/images/pdf/gafa_oliveira.pdf.
- Alcocer-Ruthling M., Thill D.C. & Shafill e B.** Seed biology of sulfonylureia-resistant
and susceptible biotypes of Prickly lettuce (*Lactuca serriola*) [Livro]. - [s.l.] : Weed
technology, 1992. - pp. 858-864.
- Alvarado M [et al.]** “Plagas y Efermedades del Olivo”, [Livro]. - [s.l.] : Edição Consejaria
de Agricultura y Pesca., 2007.
- AMARO, P. [Livro]. - A protecção integrada : DRARO/INIAP/EAN/ISA/DPPF/SAPI., ,
2003. - p. 446.
- ANIPLA** Agricultura suscentável. Contributo da indústria para a protecção das plantas.
[Livro]. - [s.l.] : ANIPLA, 2001. - p. 15.
- Anónimo** [Online]. - 11 de 2011. -
http://blogs.cope.es/ovejaneira/files/2008/09/olivo_verticilosis.jpg.
- Anónimo** <http://blogs.cope.es> [Online]. - 2010.
- Anónimo** "Fertiliz-ProdI OLIVAL" [Livro]. - [s.l.] : Documento do Curso de Biológica da
ACOS Agricultura.
- Anónimo (S/D) [Online] // Dados do sector - Exportação. - 9 de 12 de 2008. -
<http://www.casadoazeite.pt/DADOSSECTOR/exporta%C3%A7%C3%A3o/tabid/96/Default.aspx>.

Anónimo (S/D) “La poda del olivo” [Online]. - 9 de 12 de 2008. -

http://www.inta.gov.ar/larioja/info/documentos/agricultura/olivicultura/artic_oliv_o7.htm&h=421&w=335&sz=25&hl=pt-.

Anónimo (S/D) Nucleo de estudo em Fruticultura do Cerrado [Online]. - 11 de 2010. -

<http://www.fruticultura.iciag.ufu.br/>.

Anónimo Blogs.cope.es [Online]. - 17 de 10 de 2011. -

http://blogs.cope.es/ovejaneira/files/2008/09/olivo_verticilosis.jpg.

Anónimo Flickr [Online]. - 15 de 11 de 2011. -

<http://www.flickr.com/photos/9082612@N05/2128079052/>.

Anónimo http://www.aapim.com/images/pdf/gafa_oliveira.pdf [Online]. - 2010.

Anónimo <http://www.flickr.com/> [Online]. - 2010.

Áreas copm clima Mediterrâneo [Online]. - 29 de 11 de 2011. -

<http://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Medclim.png>.

Avillez F. [et al.] Rendimento e competitividade agrícolas em Portugal. Evolução Recente, situação actual a perspectivas futuras [Livro]. - Coimbra : Edições Almedina, 2004. - p. 359.

Azeite Casa do Casa do Azeite [Online] // Dados do sector - Produção. - 10 de 12 de 2008. -

<http://www.casadoazeite.pt/DADOSSECTOR/produ%C3%A7%C3%A3o/tabid/94/Default.aspx>.

BAKER D.A. "Fenomenos de transporte en las plantas" [Livro]. - Barcelona : Omega, 1980. - p. 90p.

Bates D.M. & Watts, D.G. Nonlinear regression analysis and its applications. [Livro]. - New York : J. Wiley, 1988. - pp. 29-30.

Bayer Crop Scienc 2001 Bayer Crop Science [Online]. - 5 de 10 de 2011. -

http://www.bayercropscience.pt/internet/problemas/problema.asp?id_problema=161.

Beckie H.J. Herbicide-resistant weed management [Online] / ed. 2011 Pest Manag Sci. - Society of Chemical Industry, 2011. - wileyonlinelibrary.com/journal/ps.

Belo A.F. Simões M.P., Pinto-Cruz C. e Castro M.C. EFEITOS DA GESTÃO DO SOLO NA DIVERSIDADE VEGETAL DE OLIVAL [Conferência] // XII Congresso da SEMh/XIX Congresso da ALAM/II Congresso da IBCM. - 2009.

BHOWMIK P.C. e BEKECH M.M. Horseweed (*Conyza canadensis*) seed production, emergence, and distribution in no-tillage and conventional tillage corn (*Zea mays*) [Livro]. - [s.l.] : Agronomy, 1993.. - Vol. v.1 : pp. 67-71.

Biosani [Online]. - 10 de 11 de 2011. -

<http://proteccaointegrada.biosani.com/defaultProductViewOne.asp?categoryID=309&productID=418>.

Biosani <http://proteccaointegrada.biosani.com> [Online]. - 01 de 12 de 2010.

Biosani Protecção Integrada - Biosani [Online]. -

:<http://proteccaointegrada.biosani.com/defaultProductViewOne.asp?categoryID=309&productID=439&productcategoryID=320>.

BOLLER E. F., TITI, EL. A., GENDRIER, J. P., AVILA, J., JÖRG, E. & MALAVOLTA, C. Integrated production- Principles and technical guidelines. [Livro]. - [s.l.] : OILB/SROP, 1999. - 2^a : p. 38.

BOLLER E. F., TITI, A. EL., GENDRIER, J. P., AVILLA, J., JÖRG, E. & MALAVOLTA, C. Integrated production. Principles and technical guidelines [Livro]. - [s.l.] : OILB/SROP, 1999. - Vol. 2.^a ed : p. 37 p.

BRICKELL C. A Poda [Livro]. - [s.l.] : Europa-América, 1979. - p. 228 p.

BRUCE J.A. e KELLS J.J. Horseweed (*Conyza canadensis*) control in no-tillage soybeans (*Glycine max*) with preplant and preemergence herbicides. [Livro]. - Champaign : Weed Technology, 1990.. - Vol. v.4 : pp. 642-647.

Calha IM & Rocha F First report of s-triazine resistance in Portugal . XII

Coloque. [Livro]. - (Calha & Rocha et al., 2004) : Int sur la Biol. des Mauvaises Herbes, 2004. - pp. 619-626.

Calha I. Avoadinha-peluda - *Conysa bonariensis* resistente ao glifosato [Artigo]. - 5 de 2011. - p. 2 p.

Calha I. e Rocha F. Orientações para prevenira resistência aos herbicidas [Livro]. - Oeiras : MADRP, DGPC, 2002. - p. 43.

Calha I., Portugal J. e Deprado R. RESISTÊNCIA AOS HERBICIDAS [Conferência] // Jornadas Resistência Adquirida a Herbicidas em Culturas Perenes. - Beja : [s.n.], 2011.

Calha IM Machado C & Rocha Resistance of *Alisma plantago-aquatica* to sulfonylurea herbicides in portuguese rice fields. *Hydrobiologia* [Livro]. - 1999. - pp. 415:289-293.

Calha IM Matis A, Neto M & Rocha F Are portuguese *Echinochloa* spp. populations still susceptible to propanil ? [Livro]. - [s.l.] : Comm. Appl. Biol. Sci. Ghent University, 2009. - pp. 515-519.

Chritoffoleti P.J [et al.] Plantas Daninhas à Cultura da Soja: Controle Químico e Resistência a Herbicidas [Livro]. - [s.l.] : Gil de Sousa Câmara, 2000. - pp. 179-202.

Chritoffoleti P.J., Victoria Filho R. e Silva C.B. Resistência de plantas daninhas aos herbicidas [Livro]. - 1994. - Vol. 12 : pp. 13-20.

Civantos L., Barranco D. e Fernandez-Escobar R.& Rallo, L. Sistemas de manejo del suelo. In *El cultivo del olivo* [Livro]. - [s.l.] : Ediciones Mundi-Prensa, 2004. - pp. 19-35.

Clarke J.H. e Blair A.M. & Moss, S.R. The testing and classification of herbicide resistant *Alopecurus myosuroides* (black-grass). [Livro]. - [s.l.] : Association of Applied Biologists Aspects of Applied Biology, 1994. - pp. 181-188.

Conseil Oléicole International Catalogue Mondial des Variétés D' Olivier [Livro]. - [s.l.] : Conseil Oléicole International, 2000.

DGADR DGADR [Online] // Condições de utilização de herbicidas para olival. - 4 de 2011. - www.dgadr.pt.

DRAP www.drapc.min-agricultura.pt [Online]. - 2010.

DRAPC DRAPC [Online]. - www.drapc.min-agricultura.pt.

EPPO (1994) Evidence of resistance and strategies for avoidance in the registration process: The need for European and Mediterranean Plant Organization guidelines [Livro]. - [s.l.] : Document prepared by ad hoc panel on reporting requirements on resistance, 1994. - pp. 24-25.

FAO 1997 Resistência de malezas a herbicidas [Conferência] // Reunion Regional - Division de Produccion y Protecction Vegetal. - [s.l.] : Organization de la Alimentaciony la Agricultura de las Naciones Unidas (FAO), 1997.

FAOSTAT FAOSTAT - Food Agriculture Oraganization Statistic [Online] // Trade stat - Crops and Lifestock. - 2011. - <http://faostat.fao.org/site/535/default.aspx#ancor>.

FAOSTAT FAOSTAT- Food Agriculture Oraganization Statistic [Online] // Production. - 2011. - <http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx?PageID=339&lang=en&country=174>.

Fuers E.P. International survey of Herbicide-resistant weeds [Livro]. - [s.l.] : Weed Technology, 1990. - p. 220.

Gasquez J. Iheritance of herbicide within weeds [Conferência] // International Symposiumon Weed and Crops Resistance to Herbicides. - Cordoba - Spain : [s.n.], 1995.

Gasquez J. Las resistências de las malas hiervas a los herbicidas [Conferência] // Symposium internacional las malas hiervas y su control en cultivos del área mediterránea. - 1994. - p. 63.

Georghios G.P. The magnitude of the resistance problem [Livro]. - 1986. - pp. 14-44.

Godinho I. A resistência adquirida aos herbicidas [Conferência] // Congresso Português de Fitiatria e Fitofarmacologia-III Símposio Nacional de Herbologia. - 1980. - pp. 193-197.

GÓRSKI T. Germination of seeds in the shadow of plants Physiologia Plantarum [Livro]. - Copenhagen : [s.n.], 1975. - Vol. v.34 : pp. 342-346.

Gressel J & Segel, L.A. Interrelating factors controlling the rate of appearance of resistance: the look for the Future [Livro]. - [s.l.] : Wiley Interscience Publications, 1982. - p. 401.

Gressel J. Herbicide tolerance and resistance: alteration of the site of activity [Livro]. - 1985. - pp. 159-189.

Gressel J. Why get resistance? It can be prevented or delayed [Livro]. - 1991.

Guerrero "Nueva Olivicultura" [Livro]. - [s.l.] : Mundiprensa, 1999.

Gunsolus J.L. Herbicide resistance weeds. [Livro]. - North Central Region : Extension Publication, 1993. - p. 468 pp.

Gunsolus J.L. Herbicide resistance weeds. [Livro]. - [s.l.] : Extension Publication, 1993. - p. 468.

Hall L.M., Holtum J.A.M. e Powles S.B. Mechanisms responsible for cross resistance and multiple resistance: [Livro]. - 1994. - p. 353.

Hatzios K. Mechanisms of resistance to herbicides [Livro]. - 2001.

HAYASHI I. Secondary succession of herbaceous communities in Japan: seed germination and shade tolerance of seedlings of the dominants. [Livro] / ed. Japan Society of. - [s.l.] : Bulletin Yokohama Phytosociological, 1979. - Vol. v.16 : pp. p.407-419.

Herbicide Resistance Action Committee (HRAC) [Online] // "Detecting Herbicide Resistance". - 5 de 11 de 2011. -
<http://www.hracglobal.com/Publications/DetectingHerbicideResistance/tabid/229/Default.aspx>.

Herbicide Resistance Action Committee (HRAC) [Online] // "World of Herbicides". - 10 de 11 de 2011. -
<http://www.hracglobal.com/Publications/WorldofHerbicidesMap/tabid/354/Default.aspx>.

Herbicide Resistance Action Committee (HRAC) [Online] // "Glyphosate-Resistant Weeds Globally - 2010". - 5 de 11 de 2011. -
<http://www.weedscience.org/Maps/GlyphosateMap.htm>.

Hernández J. e Mangana E. "Algunas contribuciones sobre Olivicultura y Elaiotecnia desde la perspectiva de la experiencia" [Livro]. - [s.l.] : GEA Westfalia Separator Ibérica, S.A., 2009.

HRAC Detecting herbicide resistance-Guidelines for conducting diagnostic tests and interpreting results [Livro]. - [s.l.] : Herbicide resistance action committee, 1999. - p. 10.

HRAC Global www.hracglobal.com [Online]. - 1 de 11 de 2011.

HRAC Herbicide cross resistance and multiple resistance in Plants [Livro] / ed. committee Herbicide resistance action. - 1995 b. - p. 34 pp.

HRAC www.hracglobal.com [Online] = Mapa de herbicidas . - 2010.

INGLEZ de SOUZA J. S. Poda das Plantas Frutíferas [Livro]. - [s.l.] : Nobel, 1986. - p. 224 p.

INRB DGADRE e Manual de Produção Integrada [Livro]. - [s.l.] : DGADRE e INRB, 2009.

Instituto Nacional de Estatística I.P. Estatísticas Agrícolas 2009 [Relatório] / Instituto Nacional de Estatística, I.P.. - Lisboa : Instituto Nacional de Estatística, I.P., 2009.

Instituto Nacional de Estatística I.P. Estatísticas Agrícolas 2010 [Relatório]. - Lisboa : Instituto Nacional de Estatística, I.P., 2010.

International Consei Oléicole Catalogue Mondial dès Variétés D' Olivier [Livro]. - [s.l.] : Consei Oléicole International, 2000.

Kogan Pérez & Resistência de malezas a herbicidas [Livro]. - [s.l.] : Faculdade de Agronomia e Engenharia Florestal, 2001.

Lazaroto C. [et al.] Biologia e ecofisiologia de buva (*Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis*) [Livro]. - Santa Maria : Ciência Rural, 2008. - Vol. v.38 : pp. p.852-860.

Lazaroto CA NG Fleck, Ribas AV Biologia e ecofisiologia de buva (*Conyza bonariensis* e *Conyza canadensis*) [Livro] / ed. Ciência Rural Santa Maria. - 2008. - pp. 38 (3): 852-860.

LEZ-TORRALVA F.G., HIPOLITO H.C. e BASTIDA F. Differential

Susceptibility to Glyphosate among the Conyza [Jornal] // Jornal of Agricultural and Food Chemistry Article. - 2010. - pp. 4361–4366 .

Maigre D.P. Contribution a l'étude des biotypes résistantes aux triazines. [Artigo] //

Evolution floristique en monoculture de maiz (Zea maiz L.) ete etude de residues dans un cas particulier. - 1990. - p. 250.

Maxwell B.D. e Roush M.L. & Radisevich, S.R. Predicting the evolution and dynamics of herbicide resistance in weed populations [Livro]. - [s.l.] : Weed Technology, 1999. - pp. 2-13.

Meireles O.A. Contribuição para o estudo da resistência de plantas a herbicidas [Relatório] : Relatório final de estágio / UTAD. - Vila Real : [s.n.], 1988. - p. 42.

Monteiro A. [et al.] VEGETAÇÃO INFESTANTE DO OLIVAL ALENTEJANO [Conferência] // Jornadas Resistência Adquirida a Herbicidas em Culturas Perenes. - 2001.

Monteiro A. Espécies infestantes do género Conyza Less. em Portugal - Identificação [Artigo]. - [s.l.] : Centro de Botânica Aplicada à Agricultura - ISA.

Mora L. Resistência Cloroplástica à Atrazina em Populações de Chenopodium album L. (Catassol) na Cultura do milho Tese de Mestrado [Livro] / ed. Évora Universidade de. - 2005. - p. 69 pp.

Mortimer Maxwell & Selection for herbicide resistance [Livro]. - [s.l.] : Lewis Publishers, 1994. - p. 353.

Moss S.R. et al. Screening for herbicide resistance in black-grass (Alopecurus myosuroides): a 'ring test'. [Conferência] // Proceedings of the 50th International Symposium on Crop Protection. - Gent- Belgium : [s.n.], 1998. - pp. 671- 679.

Moss S.R. Techniques for determining herbicide resistance [Conferência] // Brighton Crop Protection Conference: Weeds. - 1995. - pp. 547-556.

Mulligan Frankton & "Weeds of Canada" [Livro] / ed. SCIENCE CANADIAN JOURNAL OF PLANT. - 1987. - p. 868 pp.

NANDULA V.K. et al. Factors affecting germination of horseweed (*Conyza canadensis*). [Livro]. - Lawrence : Weed Science, 2006. - Vol. v.54 : pp. 898-902.

Nandula V.K. Glyphosate Resistance in Crops and Weeds [Livro]. - [s.l.] : Revista da Pioneer , 2010. - p. 2.

Nave A. [et al.] INFESTANTES DO OLIVAL COM INTERESSE POTENCIAL NA LIMITAÇÃO NATURAL DA TRAÇA-DA-OLIVEIRA, PRAYS OLEAE [Conferência] // XIX Congresso da SEMh/XIX Congresso da ALAM/ II Congresso da IBCM. - 2009.

O'keeffe M.G. e Graham J.C. & Justin, A.R. herbicide resistance action committee [Livro]. - [s.l.] : Pestic Outlook, 1993. - Vol. 4 : pp. 1-39.

OEPP/EPPO Efficacy evaluation of plant protection products [Livro]. - [s.l.] : General Standards, 2004. - pp. 32-37.

OEPP/EPPO Efficacy evaluation of plant protection products - General standards [Livro]. - [s.l.] : OEPP/EPPO, 2004. - 2ª : pp. 32-37.

Pacheco A.I. Tese de Mestrado - VEGETAÇÃO ESPONTÂNEA DE OLIVAIS INTENSIVOS NO BAIXO ALENTEJO [Livro]. - Lisboa : [s.n.], 2009.

Poles S.B. & Holtum, J.A. (eds.). herbicide Resistance in Plants [Livro]. - [s.l.] : Lewis Publishers. - p. 353.

Portugal J. Gestão das infestantes em culturas perenes. [Conferência]. - Jornadas Resistência Adquirida a Herbicidas em Culturas Perenes : [s.n.], 2011. - pp. 7-14.

Radosevich S.R e Appleby S.P. Relative susceptibility of two common groundsel biotypes to six s-triazines [Jornal] // Agronomy Journal. - 1973. - p. 216.

Radosevich S.R. [et al.] Implications for management (Weed Ecology) [Livro]. - [s.l.] : John Wiley & Sons, Inc, 1997. - 2ª : p. 589.

Regato M. Manual de Olivicultura da Disciplina de Olivicultura [Livro]. - 2003.

- REGEHR D.L. e BAZZAZ F.A.** The population dynamics of *Erigeron canadensis*, a successional winter annual. [Livro]. - Oxford : Journal of Ecology, 1979. - Vol. v.67 : pp. p.923-933.
- ROLLIN M.J. e TAN D.** Fleabane: first report of glyphosate resistant flax-leaf fleabane [Online]. - 10 de 2010. -
http://www.weeds.crc.org.au/documents/fleabane_proceedings%20_mar_04.pdf..
- Rubin, Caseley J.C. e Cussans G.W. & Atkin, R.K. (eds)** Herbicide Resistance in Weeds and Crops [Livro]. - Heinemann : 11th Long Asthon Int. Symp. Butterworth, 1991. - p. 500 pp.
- Ryan G.F.** Resistance of common groundsel to simazine and atrazine. [Livro]. - [s.l.] : Weed science, 1970. - pp. 614-616.
- Saari L.L., Cotterman J.C. e Smith W.F. & Primiani, M.M.** Mechanism of sulfonylurea-herbicide resistance [Livro]. - 1994.
- Salas M.** Resistencia a herbicidas. Detección en campo y laboratorio [Livro]. - [s.l.] : Serviço de Publicaciones - Universidade de Córdoba, 2011. - pp. 251-260.
- Santos [et al.]** [Online] = “demonstrapoda”. - 2002. - pdf.
- SapecAgro** <http://www.sapecagro.pt> [Online]. - 2011.
- SAPECAGRO SAPEC** [Online] // SAPECAGRO. - 11 de 2011. -
Fonte:http://www.sapecagro.pt/internet/images/webteca/webteca_img2_203.jpg.
- Seefeldt S.S. e Jensen J.E. & Fuerst, E.P.** Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships [Livro]. - [s.l.] : Weed Technology, 1995. - pp. 218-227.
- Shaner D.** Studies on mechanisms and genetics of resistance: their contribution to herbicide resistance management [Livro]. - [s.l.] : Proc. Brighton Crop Protect, 1995. - pp. 537-546.
- SIMÃO S.** Tratado de Fruticultura [Livro]. - [s.l.] : FEALQ, 1998. - p. 760 p.

STATSOFT Statistica-General conventions & statistics [Livro]. - [s.l.] :

STATSOFT, 1995. - Vol. I : p. 1859.

STEINMAUS S.J. et al. Estimation of base temperatures for nine weed species. [Jornal] //

Journal of Experimental Botany. - Oxford : [s.n.], 2000. - Vol. v.51. - pp. 275-286.

Streibig J.C. et al Quantitative assessment of herbicide phytotoxicity with dilution assay

[Livro]. - Royal Veterinary and Agricultural University - Copenhagen : Departement of Agriculture Sciences, 1992. - p. 98.

Streibig J.C. et al. Variability of bioassays with metsulfuron-methyl in soil [Livro]. -

[s.l.] : Weed Resistance, 1995. - pp. 215-224.

Syngenta “Guia do Olival” [Livro]. - 2008.

Thill D.C., Mallory-Smith. C.A. [et al.] Sulfonylurea herbicide resistant weeds:

discovery, distribution, biology, mechanism and management [Livro]. - 1991.

Thompson C.R., Thill e Shafil D.C.& Growth and competitiveness of sulfonylurea -

resistance and susceptible kochia (kochia scorpiaria) [Livro]. - [s.l.] : Weed science, 1994. - pp. 172-179.

Tranel P.J. & Wright e T.R. Resistance of weeds to ALS- inhibiting herbicides: what we

have learned? [Livro]. - [s.l.] : Weed Science, 2002. - pp. 700-712.

TREMME C.D. e PETERSON K.M. Competitive subordination of a piedmont old field

successional dominant by an introduced species [Livro]. - Columbus : American Journal of Botany, 1983. - Vol. v.70 : pp. 1125-1132.

Truelove B. e Hensley J.R. Methods of testing for herbicide resistance [Livro]. - 1982. -

pp. 117-131.

TSUYUZAKI S. e KANDA F. Revegetation patterns and seedbank structure on

abandoned pastures in northern Japan. [Livro]. - [s.l.] : American Journal of Botany, 1996. - Vol. v.83 : pp. 1422-1428.

TUBERCULOSE OU RONHA DA OLIVEIRA (Pseudomonas savastanoi) [Online] / ed.

Centro DRAP Centro Direcção Regional de Agricultura e Pescas do / prod. Pinto M.,

Batista V. e Baltazar M.. - 7 de 10 de 2011. - http://www.drapc.min-agricultura.pt/base/documentos/tuberculose_oliveira.pdf.

Vargas R. Herbicide resistance [Online] / ed. Arizona The University of. - 2 de 4 de 2003. - <http://ag.arizona.deu/crops/pesticides/papers/herbresis.html>.

Vasconcelos Flora infestante das culturas de sequeiro do Alentejo [Livro]. - 2000.

Velini E. [et al.] Glyphosate [Livro]. - [s.l.] : FEPAF, 2009i. - p. 313.

Velini E. [et al.] Glyphosate [Livro]. - [s.l.] : FEPAF, 2009h. - p. 125.

Velini E. [et al.] Glyphosate [Livro]. - [s.l.] : FEPAF, 2009g. - p. 124.

Velini E. [et al.] Glyphosate [Livro]. - [s.l.] : FEPAF, 2009f. - p. 53.

Velini E. [et al.] Glyphosate [Livro]. - [s.l.] : FEPAF, 2009e. - p. 113.

Velini E. [et al.] Glyphosate [Livro]. - [s.l.] : FEPAF, 2009d. - p. 172.

Velini E. [et al.] Glyphosate [Livro]. - [s.l.] : FEPAF, 2009c. - p. 153.

Velini E. [et al.] Glyphosate [Livro]. - [s.l.] : FEPAF, 2009b. - p. 126 .

Velini E. [et al.] Glyphosate [Livro]. - [s.l.] : FEPAF, 2009a. - p. 36.

Velini E. [et al.] Glyphosate [Livro]. - [s.l.] : FEPAF, 2009. - p. 11 .

Velini E. [et al.] Glyphosate [Livro]. - [s.l.] : FEPAF, 2009j. - pp. 314-315.

Vidal R.A. e Fleck N.G. Herbicidas: mecanismos de acção e resistência de plantas [Livro]. - [s.l.] : Porto Alegre: Palotti, 1997. - p. 165.

WEAVER S.E. The biology of Canadian weeds; Conyza canadensis [Livro]. - [s.l.] : Canadian Journal of Plant Science, 2001. - Vol. v.81 : pp. p.867-875.

Weedscience www.weedscience.org/Maps/GlyphosateMap [Online] = Representação mundial de países com biótipos resistentes ao glifosato. - 1 de 12 de 2010.

Wikipédia <http://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:Medclim.png> [Online] // Wikipédia. - 1 de 11 de 2011.

WU H. e WALKER S. Fleabane Fleabane: fleabane biology and control

[Online]. - 1 de 12 de 2010. -

[http://www.weeds.crc.org.au/documents/fleabane_proceedings% 20_mar_04.pdf](http://www.weeds.crc.org.au/documents/fleabane_proceedings%20mar_04.pdf)..

ZINZOLKER A. et al. Effects of environmental factors on the germination and flowering of *Conyza albida*, *C. bonariensis* and *C. canadensis*. [Livro]. - Jerusalem : Phytoparasitica, 1985. - Vol. v.13 : pp. p.229-230.

ANEXOS

ANEXOS I

Material e equipamento utilizados

Preparação das amostras para a germinação

Sementes de *Conyzacandensis* (amostras S, B3 e C)

Balança Mettler

Placas de Petri = 20 (5 pops x 4 reps)

Nº sementes /placa: 50

Nº reps: 4

Condições de germinação: – alternância de temperatura e luz 20 / 25°C (16 h luz)

Câmara: CASSEL CBT

Papel de Filtro (Whatmann 10)

Solução de KNO₃ (0.2%)

Câmara incubadora CASSEL CBT

Pinça

Espátula

OPS (Oxford Precision Sprayer)

ANEXOS II

Germinação de sementes de *Conyzacanadensis*

Material e equipamento utilizados

Ensaio de germinação de sementes de *Conyzacanadensis*

- Sementes de *Conyzacanadensis* (cerca de 1000 sementes)
- Data de colheita – Outono – Outubro/Novembro (*Conyza* spp.)
- Método – Cortar inflorescência directamente para o saco (incluir parte da planta com caule e folhas para posterior identificação em laboratório).

Limpeza e conservação das sementes

- Espalhar as inflorescências/cípselas num tabuleiro e deixar seca à temperatura ambiente à sombra
- Crivar (crivo mesh 2 mm)
- Guardar em saco de papel, ou frasco de vidro fumado a 4° C

Preparação das placas de Petri

- N° de placas de Petri (PVC, diam 9 cm) – 7 conc. X 2 reps. x 2-3 populações (S, B6 e R3) = 28 - 42
- Substrato – 135 g de areia lavada + 2 folhas de papel de filtro WATHman #1
- N° de sementes – 50 , colocadas na base da placa de Petri
- Identificar placas: GLIF, xx mM, S/B6/R3, data (dd/mm/aa)

Preparação e aplicação das soluções herbicida

- **Solução stock de nitrato de potássio 0,2 %**
 - Pesar 2 g de KNO₃ e adicionar a 1 L de água destilada (H₂O d)
- **Solução stock de herbicida 500 mg L-1 (ppm) de glifosato**
 - Glifosato C₃H₈NO₅P; PM = 169, 1 gp.c. (360 g e.a. L-1, SL, Monsanto)
 - Encher balão de 100 ml com água destilada até metade do seu volume.



- Medir com a maior precisão possível 1,38 ml de p.c. (500 mg s.a.) de p.c. contendo 360 g e.a. L-1 de glifosato e adicionar ao balão, perfazendo o volume de 100 ml. Agitar e identificar: STOCK 500 ppm glifosato, data (dd/mm/aa)
- **Solução 5 mM**
 - $5\text{mM} \sim 5\text{ ppm} = 5\text{ mg L}^{-1} = 5\text{ ug ml}^{-1}$
 - Encher um segundo balão de 100 ml com sol KNO_3 (0,2 %) até metade do seu volume.
 - Medir com a maior precisão possível 1 ml da solução stock de glifosato (500 ppm) e adicionar ao balão, perfazendo o volume de 100 ml. Agitar e identificar : 5 mM glifosato, data (dd/mm/aa).
- **Soluções 0,05 mM a 1 mM**
 - Preparar 100 ml de cada solução por diluição a partir da solução 5 mM (ci x vi = vf x cf)

Concentração (mM)	Volume sol 5 mM (ml)	Vol sol KNO_3 (0,2 %)
1	20 (5mMxvi=100 mlx1)	80
0,5	10 (5mMxvi=100 mlx0,5)	90
0,1	2 (5mMxvi=100 mlx0,1)	98
0,05	1 (5mMxvi=100 mlx0,05)	99
0,01	2 (0,5mMxvi=100 mlx0,01)	98

- **Aplicação**
 - Adicionar 5-10 ml de cada solução nas Placas de Petri respectivas: 4-6 placas de Petri por concentração (2 -3 pop x 2 reps);
 - , Adicionar 5 ml de solução sol KNO_3 (0,2 %).
- **Condições do ensaio**
 - Colocar as placas de Petri, não seladas, empilhadas dentro de sacos de plástico transparente, separando em duas repetições cada. Colocar uma placa de Petri vazia só com papel de filtro e fechar com elástico.
 - Colocar em câmara incubadora Cassel, a 28°C, na obscuridade/ 16 h luz ;
 - Mover os sacos dentro da câmara de 2 em dois dias.
 - Se as placas não forem seladas, adicionar 2ml de H_2O d de 2-2 dias
- **Avaliação**
 - Ao fim de 5 dias, 7 dias e 15 dias proceder às seguintes observações:

- N° de sementes germinadas. Radícula > 2mm
- N° de rebentos > 1 cm
- Calcular % de germinação
- Calcular % de redução do número de rebentos > 1 cm (em relação à testemunha)

Observações: 2-2- dias (sementes germinadas: radícula > 2 mm)

ANEXOS III

ENSAIO TESTE EXPEDITO COM SEMENTES PARA AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA AO GLIFOSATO - CONYZA spp.

Colheita de sementes

Objectivo colher uma amostra em quantidade e qualidade e representativa da situação da resistência no campo.

Mínimo de 40 plantas distribuídas pelo campo (cerca de 1000 sementes)

Data de colheita – Outono – Outubro/Novembro (Conyza spp.)

Método – Cortar inflorescência directamente para o saco (incluir parte da planta com caule e folhas para posterior identificação em laboratório).

Limpeza e conservação das sementes

Espalhar as inflorescências/cipselas num tabuleiro e deixar secar à temperatura ambiente
à sombra

Crivar (crivo mesh 2 mm)

Guardar em saco de papel, ou frasco de vidro fumado a 4° C

Preparação das placas de Petri

Nº de placas de Petri (PVC, diam 9 cm) – 7 conc. X 2 reps. x 2-3 populações (S, B6 e R3) =
28 - 42

Substrato – 135 g de areia lavada + 2 folhas de papel de filtro WAThman #1

Nº de sementes – 50 , colocadas na base da placa de Petri

Identificar placas: GLIF, xx mM, S/B6/R3, data (dd/mm/aa)

Preparação e aplicação das soluções herbicida

Solução stock de nitrato de potássio 0,2 %

Pesar 2 g de KNO_3 e adicionar a 1 L de água destilada ($\text{H}_2\text{O d}$)

Solução stock de herbicida 500 mg L⁻¹ (ppm) de glifosato

Glifosato $\text{C}_3\text{H}_8\text{NO}_5\text{P}$; PM = 169, 1 g

p.c. (360 g e.a. L⁻¹, SL, Monsanto)

Encher balão de 100 ml com água destilada até metade do seu volume.

Medir com a maior precisão possível 1,38 ml de p.c. (500 mg s.a.) de p.c. contendo 360 g e.a. L⁻¹ de glifosato e adicionar ao balão, prefazendo o volume de 100 ml. Agitar e identificar : STOCK 500 ppm glifosato, data (dd/mm/aa)

Solução 5 mM

$5\text{mM} \sim 5\text{ ppm} = 5\text{ mg L}^{-1} = 5\text{ ug ml}^{-1}$

Encher um segundo balão de 100 ml com sol KNO_3 (0,2 %) até metade do seu volume.

Medir com a maior precisão possível 1 ml da solução stock de glifosato (500 ppm) e adicionar ao balão, prefazendo o volume de 100 ml. Agitar e identificar : 5 mM glifosato, data (dd/mm/aa).

Soluções 0,05 mM a 1 mM

Preparar 100 ml de cada solução por diluição a partir da solução 5 mM ($c_i \times v_i = v_f \times c_f$)

Concentração (mM)	Volume sol 5 mM (ml)	Vol sol KNO ₃ (0,2 %)
1	20 (5mMxvi=100 mlx1)	80
0,5	10 (5mMxvi=100 mlx0,5)	90
0,1	2 (5mMxvi=100 mlx0,1)	98
0,05	1 (5mMxvi=100 mlx0,05)	99
0,01	2 (0,5mMxvi=100 mlx0,01)	98

Aplicação

Adicionar 5-10 ml de cada solução nas Placas de Petri respectivas : 4-6 placas de Petri por concentração (2 -3 pop x 2 reps);

Para as testemunhas (0 mM) , adicionar 5 ml de solução sol KNO₃ (0,2 %).

Condições do ensaio

Colocar as placas de Petri, não seladas, empilhadas dentro de sacos de plástico transparente, separando em duas repetições cada. Colocar uma placa de petri vazia só com papel de filtro e fechar com elástico.

Colocar em câmara incubadora Cassel, a 28 °C, na obscuridade/ 16 h luz ;

Mover os sacos dentro da câmara de 2 em dois dias.

Se as placas não forem seladas, adicionar 2ml de H₂O d de 2-2 dias

Avaliação

Ao fim de 5 dias, 7 dias e 15 dias proceder às seguintes observações:

Nº de sementes germinadas. Radícula > 2mm

Nº de rebentos > 1 cm

Calcular % de germinação

Calcular % de redução do número de rebentos > 1 cm (em relação à testemunha)

REFERÊNCIAS

Nadar-Hassar & Rubi (2003). Weed Research

Tal *et al.* (2000). Crop protection

Moss (daat) Rothamsted rapid resistance test

Cirujeda *et al.* . (2001): Weed Research

Sibony *et al.* . (2001). Weed research

Smeda *et al.* (1995). International Symposium on Plant Resistance to herbicides. Cordoba.

ANEXOS IV

Quadro com classificação BBCH - 1- Desenvolvimento / Nº de folhas

Classificassão BBCH - 1- Desenvolvimento / Nº de folhas									
	População	S		B3		C		C1	
Nº de Folhas	1	14	19 / 114	49	149	33	133	16	116
	2	18	19/ 118	43	143	25	125	25	125
	3	18	19 / 118	42	142	27	127	24	124
	4	-	-	47	147	23	123	-	-
Diâmetro da roseta (cm)	1	16		17		-		12	
	2	15,5		19		-		19	
	3	17,5		17		-		15,5	
	4	-		20,5		-		-	
Classificassão BBCH - 3- Desenvolvimento / Nº de Nós									
Nª de Nós	1	-		-		10	39 / 310	-	
	2	-		-		13	39 / 313	-	
	3	-		-		12	39 / 312	-	
	4	-		-		11	39 / 311	-	
Altura (cm)	1	-		-		14		-	
	2	-		-		21		-	
	3	-		-		13		-	
	4	-		-		13,5		-	



Quadro com a classificação BBCH

Phenological growth stages and BBCH-identification keys of weeds		
Code	Plant type	Description
Principal growth stage 0: Germination, sprouting, bud development		
00		Dry seed
	V	Perennating or reproductive organs during the resting period (tuber, rhizome, bulb, stolon)
	P	Winter dormancy or resting period
01		Beginning of seed imbibition
	P, V	Beginning of bud swelling
03		Seed imbibition complete
	P, V	End of bud swelling
05		Radicle (root) emerged from seed
	V	Perennating or reproductive organs forming roots
06		Elongation of radicle, formation of root hairs and/or lateral roots
07	G	Coleoptile emerged from caryopsis
	D, M	Hypocotyl with cotyledons or shoot breaking through seed coat
	P, V	Beginning of sprouting or bud breaking
08	D	Hypocotyl with cotyledons or shoot growing towards soil surface
	V	Shoot growing towards soil surface
09	G	Emergence: Coleoptile breaks through soil surface
	D, M	Emergence: Cotyledons break through soil surface (except hypogeal germination);
	V	Emergence: Shoot/Leaf breaks through soil surface
	P	Buds show green tips
Principal growth stage 1: Leaf development (main shoot)		
10	G, M	First true leaf emerged from coleoptile
	D	Cotyledons completely unfolded
	P	First leaves separated
11		First true leaf, leaf pair or whorl unfolded
	P	First leaves unfolded
12		2 true leaves, leaf pairs or whorls unfolded
13		3 true leaves, leaf pairs or whorls unfolded
1 -		Stages continuous till ...
19		9 or more true leaves, leaf pairs or whorls unfolded
Principal growth stage 2: Formation of side shoots / tillering		
21		First side shoot visible
	G	First tiller visible
22		2 side shoots visible
	G	2 tillers visible
23		3 side shoots visible
	G	3 tillers visible
2 -		Stages continuous till ...
29		9 or more side shoots visible
	G	9 or more tillers visible
Principal growth stage 3: Stem elongation /shoot development (main shoot)		
30		Beginning of stem elongation
	G	Beginning of shooting
31		1 visibly extended internode
	G	1 node stage
32		2 visibly extended internode;
	G	2 node stage
33		3 visibly extended internode
	G	3 node stage
3 -		Stages continuous till ...
39		9 or more visibly extended internodes
	G	9 or more nodes
Principal growth stage 4: vegetative propagation / booting (main shoot)		
40	V	Vegetative reproductive organs begin to develop (rhizomes, stolons, tubers, runners, bulbs)
41	G	Flag leaf sheath extending
42	V	First young plant visible
43	G	Flag leaf sheath just visibly swollen (mid-boot)
45	G	Flag leaf sheath swollen (late-boot)
47	G	Flag leaf sheath opening
49	V	Constant new development of young plants; vegetative reproductive organs reach final size
	G	First awns visible
Principal growth stage 5: Inflorescence emergence (main shoot) / heading		
51		Inflorescence or flower buds visible
	G	Beginning of heading
55		First individual flowers visible (still closed)
	G	Half of inflorescence emerged (middle of heading)
59		First flower petals visible (in petalled forms)
	G	Inflorescence fully emerged (end of heading)
Principal growth stage 6: Flowering (main shoot)		
60		First flowers open (sporadically)
61		Beginning of flowering: 10% of flowers open
63		30% of flowers open
65		Full flowering: 50% of flowers open, first petals may be fallen
67		Flowering finishing: majority of petals fallen or dry
69		End of flowering: fruit set visible
Principal growth stage 7: Development of fruit		
71		Fruits begin to develop
	G	Caryopsis watery ripe
79		Nearly all fruits have reached final size normal for the species and location
Principal growth stage 8: Ripening or maturity of fruit and seed		
81		Beginning of ripening or fruit coloration
89		Fully ripe
Principal growth stage 9: Senescence, beginning of dormancy		
97		End of leaf fall, plants or above ground parts dead or dormant;
	P, V	Plant resting or dormant

ANEXOS V

Quadros com o levantamento florístico do olival (Monteiro, 2011)

NOME CIENTIFICO	Código Bayer	Familia	Tipo Fisionómico	Entrelinha			Linha		
				FA	FR	AM	FA	FR	AM
<i>Allium roseum</i> L. var. <i>roseum</i>	ALLRO	Liliáceas	Criptófito	12	17,4	0,67	4	5,8	0,50
<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	AMARE	Amarantáceas	Terófito	11	15,9	0,50	0	0	0
<i>Anacyclus radiatus</i> Loisel.	ANYRA	Compostas	Terófito	28	40,9	0,75	0	0	0
<i>Anagallis arvensis</i> L. var. <i>arvensis</i>	ANGAR	Primuláceas	Terófito	14	20,3	0,50	0	0	0
<i>Anagallis arvensis</i> L. var. <i>coerulea</i> (L.) Gouan	ANGCO	Primuláceas	Terófito	29	42,0	0,77	1	1,4	0,50
<i>Anchusa undulata</i> L. ssp. <i>undulata</i>	ANCUN	Boragináceas	Hemicriptófito	22	31,9	0,68	0	0	0
<i>Andryala laxiflora</i> DC.	ADYLA	Compostas	Terófito	20	29,0	0,50	0	0	0
<i>Apium nodiflorum</i> (L.) Lag.	APUNO	Umbelíferas	Criptófito	9	13,0	0,50	0	0	0
<i>Arum italicum</i> Mill. ssp. <i>italicum</i>	ABGIT	Aráceas	Criptófito	23	33,3	0,50	14	20,3	0,86
<i>Avena barbata</i> Brot.	AVEBA	Gramíneas	Terófito	35	50,7	5,64	0	0	0
<i>Avena sterilis</i> L. ssp. <i>ludoviciana</i> (Dur.) Gil. & Nyman	AVELU	Gramíneas	Terófito	39	56,5	21,4	6	8,7	0,50
<i>Beta vulgaris</i> L. ssp. <i>cicla</i> (L.) Archangeli	BETVU	Quenopodiáceas	Hemicriptófito	22	31,9	0,68	0	0	0
<i>Bromus diandrus</i> Roth	BRODI	Gramíneas	Terófito	29	42,0	12,3	0	0	0
<i>Bromus hordeaceus</i> L. ssp. <i>hordeaceus</i>	BROMO	Gramíneas	Terófito	43	62,3	14,7	3	4,3	0,50
<i>Bromus madritensis</i> L.	BROMA	Gramíneas	Terófito	43	62,3	12,0	1	1,5	0,50
<i>Bromus rubens</i> L.	BRORU	Gramíneas	Terófito	12	17,4	2,67	0	0	0
<i>Bryonia dioica</i> Jacq. (B. <i>cretica</i> L. ssp. <i>dioica</i> (Jacq.) Tutin)	BYODI	Cucurbitáceas	Criptófito	2	2,9	0,50	2	2,9	0,50
<i>Calendula arvensis</i> L.	CLDAR	Compostas	Terófito	56	81,2	2,03	17	24,6	0,50
<i>Capsella rubella</i> Reuter	CAPRU	Crucíferas	Terófito	18	26,1	0,50	0	0	0
<i>Carduus tenuiflorus</i> Curt.	CRUTE	Compostas	Terófito	13	18,8	0,50	0	0	0
<i>Carthamus lanatus</i> L.	CAULA	Compostas	Terófito	15	21,7	0,50	0	0	0
<i>Centaurea pullata</i> L.	CENPU	Compostas	Terófito	24	34,8	2,21	2	2,9	0,50
<i>Cerastium glomeratum</i> Thuill.	CERGL	Cariofiláceas	Terófito	13	18,8	11,8	9	13,0	0,50
<i>Chamaemelum fuscum</i> (Brot.) Vasc. (<i>Anthemis fuscata</i> Brot.)	ANTPR	Compostas	Terófito	42	60,8	1,50	6	8,7	0,50
<i>Chamaemelum mixtum</i> (L.) All. (<i>Anthemis mixta</i> L.)	ANTMI	Compostas	Terófito	27	39,1	2,50	2	2,9	0,50
<i>Chenopodium album</i> L.	CHEAL	Quenopodiáceas	Terófito	14	20,3	0,57	0	0	0
<i>Chrysanthemum coronarium</i> L.	CHYCO	Compostas	Terófito	22	31,9	0,95	0	0	0
<i>Chrysanthemum coronarium</i> var. <i>discolor</i> dÜrv.	CHYCO	Compostas	Terófito	46	66,7	6,52	1	1,4	0,50
<i>Chrysanthemum segetum</i> L.	CHYSE	Compostas	Terófito	42	60,9	0,81	1	1,4	0,50
<i>Cichorium intybus</i> L.	CICIN	Compostas	Hemicriptófito	24	34,9	1,67	1	1,4	0,50
<i>Cistus salvifolius</i> L.	CSTSA	Cistáceas	Caméfito	13	18,8	0,50			
<i>Coleostephus myconis</i> (L.) Reichenb. fil.	CHYMY	Compostas	Terófito	31	44,9	0,79	3	4,3	0,50
<i>Convolvulus arvensis</i> L.	CONAR	Convolvuláceas	Criptófito	17	24,6	0,50	19	27,5	0,50

NOME CIENTIFICO	Código Bayer	Familia	Tipo Fisionómico	Entrelinha			Linha		
				FA	FR	AM	FA	FR	AM
<i>Conyza</i> Less.	ERIFL	Compostas	Hemicriptófito	44	63,8	1,52	35	50,7	0,6
<i>Coronopus didymus</i> (L.) Sm.	COPDI	Crucíferas	Terófito	2	2,9	0,50	0	0	0
<i>Crepis capillaris</i> (L.) Wallr.	CVPCA	Compostas	Terófito	20	28,9	0,70	0	0	0
<i>Crepis vesicaria</i> L. ssp. <i>haenseleri</i> (Boiss.) P. D.	CVPVV	Compostas	Hemicriptófito	26	37,7	0,73	0	0	0
<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Press	CYNDA	Gramíneas	Criptófito	0	0	0	9	13,0	0,50
<i>Daucus carota</i> L. ssp. <i>maritimus</i> (Lam) Batt.	DAUCT	Umbelíferas	Hemicriptófito	30	43,5	0,67	12	17,4	0,50
<i>Daucus carota</i> L. ssp. <i>maximus</i> (Desf.) Ball	DAUCM	Umbelíferas	Hemicriptófito	12	17,4	0,91	2	2,9	0,50
<i>Diploaxis catholica</i> (L.) DC.	DIPCA	Crucíferas	Terófito	31	44,9	3,76	1	1,5	0,50
<i>Ditrichia viscosa</i> (L.) W. Greuter ssp. <i>viscosa</i>	INUVI	Compostas	Caméfito	11	15,9	0,50	2	2,9	0,50
<i>Echinum plantagineum</i> L.	EHIPL	Boragináceas	Hemicriptófito	56	81,2	10,1	4	5,8	0,50
<i>Erodium moschatum</i> (L.) L'Hér	EROMO	Geraniáceas	Terófito	51	73,9	0,75	2	2,9	0,50
<i>Erodium botrys</i> (Cav.) Bertol.	EROBOT	Geraniáceas	Terófito	17	24,6	0,79	0	0	0
<i>Erodium malacoides</i> (L.) L'Hér	EROMC	Geraniáceas	Terófito	40	57,9	0,82	0	0	0
<i>Euphorbia helioscopia</i> L.	EPHHE	Euforbiáceas	Terófito	10	14,5	0,50	0	0	0
<i>Foeniculum vulgare</i> Miller ssp. <i>piperitum</i> (Ucria) P. Cout	FOEVP	Umbelíferas	Hemicriptófito	12	17,4	0,50	0	0	0
<i>Foeniculum vulgare</i> Miller ssp. <i>vulgare</i>	FOEVU	Umbelíferas	Hemicriptófito	9	13,0	0,50	0	0	0
<i>Fumaria officinalis</i> L.	FUMOF	Papaveráceas	Terófito	24	34,8	0,62	2	2,9	0,50
<i>Galactites tomentosa</i> Moench	GCTTO	Compostas	Terófito	39	56,5	1,91	1	1,4	0,50
<i>Galium aparine</i> L.	GALAP	Rubiáceas	Terófito	21	30,5	0,50	2	2,9	0,50
<i>Galium verrucosum</i> Hudson	GALVR	Rubiáceas	Terófito	31	44,9	0,91	0	0	0
<i>Geranium dissectum</i> L.	GERDI	Geraniáceas	Terófito	18	26,0	0,89	0	0	0
<i>Geranium rotundifolium</i> L.	GERRT	Geraniáceas	Terófito	3	4,3	0,50	0	0	0
<i>Gladolus italicus</i> Miller (<i>Gladolus segetum</i> Ker-Gawl.)	GLAIT	Indíceas	Criptófito	9	13,0	0,61	1	1,4	0,50
<i>Hirschfeldia incana</i> (L.) Lagréze-Fossat	HISIN	Crucíferas	Hemicriptófito	17	24,6	3,4	1	1,4	0,50
<i>Holcus mollis</i> L.	HOLMO	Gramíneas	Terófito	17	24,6	1,76	1	1,4	0,50
<i>Hordeum maritimum</i> Hudson	HORMA	Gramíneas	Terófito	20	28,9	6,00	1	1,4	0,50
<i>Hordeum murinum</i> L. ssp. <i>leporinum</i> (Link) Archangeli	HORLE	Gramíneas	Terófito	43	62,3	5,95	0	0	0
<i>Lactuca serriola</i> L.	LACSE	Compostas	Terófito	13	18,8	0,50	0	0	0
<i>Lamium amplexicaule</i> L.	LAMAM	Labiadas	Terófito	8	11,6	0,50	2	2,9	0,50
<i>Lathyrus angulatus</i> L.	LTHAG	Leguminosas	Terófito	15	21,7	0,50	0	0	0
<i>Lavatera cretica</i> L.	LVACR	Malváceas	Terófito	43	62,3	1,43	8	11,6	0,50
<i>Lavatera trimestris</i> L.	LVATR	Malváceas	Terófito	6	8,7	0,50	1	1,5	0,50

Quadros com o levantamento florístico do olival (Monteiro, 2011)

NOME CIENTIFICO	Código Bayer	Familia	Tipo Fisionómico	Entrelinha			Linha		
				FA	FR	AM	FA	FR	AM
<i>Leontodon taraxacoides</i> (Vill.) Mérat ssp. <i>taraxacoides</i>	LEBNT	Compostas	Hemicriptófito	8	11,6	0,50	0	0	0
<i>Lolium multiflorum</i> Lam.	LOLMU	Gramíneas	Terófito	15	21,7	6,03	2	2,9	0,50
<i>Lolium perenne</i> L.	LOLPE	Gramíneas	Criptófito	36	52,2	3,69	1	1,4	0,50
<i>Lolium rigidum</i> Gaudin	LOLRI	Gramíneas	Terófito	43	62,3	12,45	1	1,4	1,50
<i>Lotus corniculatus</i> L.	LOTCO	Leguminosas	Terófito	17	24,6	2,08	0	0	0
<i>Lupinus angustifolius</i> L. ssp. <i>angustifolius</i>	LUPAN	Leguminosas	Terófito	4	5,8	0,50	0	0	0
<i>Medicago polymorpha</i> L. (<i>Medicago nigra</i> (L.) Krock.)	MEDPO	Leguminosas	Terófito	59	85,5	7,31	2	2,9	0,50
<i>Mentha x rotundifolia</i> (L.) Hudson	MENRO	Labiadas	Criptófito	10	14,5	0,50	0	0	0
<i>Misopates orontium</i> (L.) Rafin. (<i>Antirrhinum orontium</i> L.)	ATHOR	Escrofulariáceas	Terófito	24	34,8	0,50	0	0	0
<i>Muscari comosum</i> (L.) Miller	MUSCO	Liliáceas	Criptófito	27	39,1	2,20	0	0	0
<i>Notobasis syriaca</i> L. Cass.	NOBSY	Compostas	Terófito	4	5,8	0,50	0	0	0
<i>Ornithopus compressus</i> L.	OROCO	Leguminosas	Terófito	8	11,6	1,00	0	0	0
<i>Oxalis pes-caprae</i> L.	OXAPC	Oxalidáceas	Criptófito	3	4,3	0,50	2	2,9	0,50
<i>Pallenis spinosa</i> (L.) Cass.	PNSSP	Compostas	Terófito	26	37,7	0,69	0	0	0
<i>Panicum repens</i> L.	PANRE	Gramíneas	Criptófito	23	33,3	8,80	3	4,3	0,50
<i>Papaver dubium</i> L.	PAPDU	Papaveráceas	Terófito	4	5,8	0,50	0	0	0
<i>Phalaris coerulescens</i> Desf.	PHACO	Gramíneas	Hemicriptófito	9	13,0	0,50	0	0	0
<i>Phalaris minor</i> Retz	PHAMI	Gramíneas	Terófito	44	63,8	19,93	1	1,4	0,50
<i>Picris echinoides</i> L.	PICEC	Compostas	Hemicriptófito	29	42,0	0,60	7	10,1	0,50
<i>Plantago coronopus</i> L.	PLACO	Plantagináceas	Hemicriptófito	15	21,7	0,50	1	1,4	0,50
<i>Plantago lagopus</i> L.	PLALG	Plantagináceas	Hemicriptófito	35	50,7	0,50	0	0	0
<i>Polygonum aviculare</i> L.	POLAV	Poligonáceas	Terófito	3	4,3	0,50	0	0	0
<i>Pseudognaphalium luteo-album</i> (L.) Hilliard & B. L. Burt	GNALA	Compostas	Terófito	9	13,0	0,50	0	0	0
<i>Raphanus raphanistrum</i> L. ssp. <i>raphanistrum</i>	RAPRA	Crucíferas	Terófito	43	62,3	9,29	14	20,3	0,50
<i>Rapistrum rugosum</i> (L.) All.	PICEC	Compostas	Terófito	23	33,33	1,19	0	0	0
<i>Reseda phyteuma</i> L.	RESPI	Resedáceas	Terófito	11	15,94	0,59	0	0	0
<i>Rumex crispus</i> L.	RASRU	Crucíferas	Hemicriptófito	28	40,58	0,85	0	0	0
<i>Scabiosa atropurpurea</i> L.	SCBAT	Dipsacáceas	Hemicriptófito	13	18,84	0,50	2	2,9	0,50
<i>Scandix pecten-veneris</i> L.	SCAPV	Umbelíferas	Terófito	24	34,78	0,50	0	0	0
<i>Scolymus hispanicus</i> L.	RUMCR	Poligonáceas	Hemicriptófito	34	49,27	2,91	0	0	0
<i>Scorpiurus muricatus</i> L.	SCSMU	Leguminosas	Terófito	41	59,42	0,62	2	2,9	0,50
<i>Scorpiurus vermiculatus</i> L.	SCSVE	Leguminosas	Terófito	40	57,97	0,77	1	1,4	0,50

NOME CIENTIFICO	Código Bayer	Familia	Tipo Fisionómico	Entrelinha			Linha		
				FA	FR	AM	FA	FR	AM
<i>Senecio jacobaea</i> L.	SENJA	Compostas	Hemicriptófito	15	21,7	0,50	1	1,4	0,50
<i>Senecio vulgaris</i> L.	SENVU	Compostas	Terófito	42	60,8	1,33	6	8,7	0,50
<i>Sherardia arvensis</i> L.	SHRAR	Rubiáceas	Terófito	65	94,2	10,63	3	4,3	0,50
<i>Silene colorata</i> Poir.	SILCO	Cariofiláceas	Terófito	9	13,0	0,50	0	0	0
<i>Silene gallica</i> L.	SILGA	Cariofiláceas	Terófito	26	37,6	0,53	0	0	0
<i>Sinapsis arvensis</i> L.	SINAP	Compostas	Terófito	67	97,1	7,20	3	4,3	0,50
<i>Sisymbrium officinale</i> (L.) Scop.	SSYOF	Crucíferas	Terófito	22	31,9	6,00	0	0	0
<i>Solanum nigrum</i> L. ssp. <i>nigrum</i>	SOLNI	Solanáceas	Terófito	26	37,7	0,57	43	62,3	0,50
<i>Sonchus asper</i> (L.) Hill. ssp. <i>asper</i>	SONAS	Crucíferas	Terófito	68	98,6	1,55	4	5,8	0,50
<i>Sonchus oleraceus</i> L.	SONOL	Compostas	Terófito	69	100,0	1,25	8	11,6	0,62
<i>Spergula arvensis</i> L.	SPRAR	Cariofiláceas	Terófito	17	24,6	6,95	0	0	0
<i>Spergularia purpurea</i> (Presl) G. Don. fil	SPBPU	Cariofiláceas	Terófito	13	18,8	0,50	0	0	0
<i>Stachys arvensis</i> (L.) L.	STAAR	Labiadas	Terófito	9	13,0	0,50	0	0	0
<i>Tortilis arvensis</i> (Hudson) Link	TOIAR	Umbelíferas	Terófito	16	23,2	0,50	0	0	0
<i>Tortilis nodosa</i> (L.) Gaertner	TOINO	Umbelíferas	Terófito	24	34,8	0,79	0	0	0
<i>Trifolium arvense</i> L.	TRFAR	Leguminosas	Terófito	15	21,7	0,90	0	0	0
<i>Trifolium resupinatum</i> L.	TRFRS	Leguminosas	Terófito	23	33,3	1,58	0	0	0
<i>Urospermum picroides</i> (S.) Scop. F. W. Schmidt	URPPI	Compostas	Terófito	14	20,3	0,50	0	0	0
<i>Verbascum thapsus</i> L. ssp. <i>thapsus</i>	VESTH	Escrofulariáceas	Hemicriptófito	4	5,7	0,50	0	0	0
<i>Vicia benghalensis</i> L.	VICBE	Leguminosas	Terófito	39	56,5	0,98	0	0	0
<i>Vicia laxiflora</i> Brot.	VICTS	Leguminosas	Terófito	15	21,7	0,83	1	1,5	0,50
<i>Vicia lutea</i> L. var. <i>lutea</i>	VICLU	Leguminosas	Terófito	51	73,9	0,73	0	0	0
<i>Vicia sativa</i> L. ssp. <i>cordata</i>	VICCO	Leguminosas	Terófito	20	28,9	0,75	0	0	0
<i>Vicia sativa</i> L. ssp. <i>sativa</i>	VICSA	Leguminosas	Terófito	11	15,9	0,50	0	0	0
<i>Vulpia</i> ssp.	VLPSS	Gramíneas	Terófito	20	28,9	1,10	0	0	0
<i>Xanthium strumarium</i> L.	XANST	Compostas	Terófito	11	15,9	0,50	0	0	0

ANEXOS VI

Fotografias do ensaio



ANEXOS VII

Ensaio de dose-resposta para confirmação da resistência a herbicidas

Objectivo – Obtenção de plantas da espécie *Conyza canadensis* a partir de semente e realização de ensaios de dose-resposta com planta inteira para confirmação de resistência adquirida ao herbicida glifosato.

Material vegetal

Origem – Beja

Nº Populações – 5 (4 suspeitas de R e uma S de referência)

Data de colheita – R (Março 2010); S (Julho 2010)

ID	Propriedade	Localidade	Data colheita	Espécie
S	Valas	F. do Alentejo	Agosto 2010	C. Canadensis
B3	Sobrado	F. do Alentejo	Novembro 2010	C. Canadensis
C	Canhestros	F. do Alentejo	Outubro 2010	C. Canadensis

Ensaio de germinação

Placas Petri = 20 (5 pops x 4 reps)

Substrato – meio de agar (1%) preparado com KNO₃ (0,2%)

Volume(ml)	Agar(g)	KNO ₃ (g)
1000	10	2
500	5	1

Nº sementes /placa: 50

Nº reps: 4

Condições de germinação: – alternância de temperatura e luz 20 / 25 °C (16 h luz)

Câmara: CASSEL CBT

Observações: 2-2- dias (sementes germinadas: radícula > 2 mm)

Registo:

Rep. / Datas	Início								
I	50								
II	50								
III	50								
IV	50								
Total	200								
Total acumulado	-								
%	-								

Ensaio de dose-resposta

Sementeira em tabuleiros

Tabuleiros – 5 (1/população)

Substrato de crescimento - terra:turfa:areia (2:1:1);

Características do solo -

Fertilizante - BLAUKORC (20 g v/v); ~100 ml / 8000 ml substrato

Sementeira – mistura de sementes e substrato (1:1); distribuição uniforme à superfície do tabuleiro , cobrir com substrato;

Rega – aspersão, periodicamente;

Transplante

Nº de vasos = 120 (5 pops x 6 doses x 4 reps)

Substrato de crescimento - terra:turfa:areia (2:1:1);

Características do solo - (textura; %areia, %limo; %argila; pH; m.o. %) ;

Fertilização utilizada - BLAUKORC (20 g v/v);

Manutenção das plantas - rega por subirrigação, quando necessário; solução nutritiva : 15-15 dias;

Condições de crescimento – min 20 ° C;

Local – Estufa climatizada (INRB/LINIA, Oeiras)

Aplicação

Estado Fenológico no dia da aplicação - plantas com 3-4 folhas (BBCH 13-14) ou no estado de roseta (BBCH 118-122)

Delineamento experimental - totalmente casualizado

Modalidades - 6 (doses ¹ 0, 45, 90, 180, **360**, 720, 1440 eq.a. ha⁻¹ de glifosato – BBCH 13-14) ou

(doses 0, 180, **360**, 720, 1440, 2880 eq.a. ha⁻¹ de glifosato – BBCH 118-122)

Repetições – 4

Método de aplicação - aplicação do herbicida glifosato (sal de isopropilamónio) (p.c., 360 eq.ac s.a.L⁻¹, SL, Empresa) com um OPS (Oxford Precision System) equipado com bico de leque e calibrado para aplicar 200 L ha⁻¹ herbicida, a uma pressão de 275 kPa;

Duração do ensaio - 40-50 dias;

Observações

Tipo e período de observações/medições – Acompanhamento semanal da emergência e desenvolvimento das plântulas de *C. bonariensis*. Registo do estado fenológico no dia da aplicação. Quinze e 21 dias após a aplicação (DAA) registaram-se os sintomas que as plantas apresentavam de acordo com uma escala e procedeu-se à determinação do peso verde, no final do ensaio;

Descrição das escalas utilizadas - escala de sintomas de fitotoxicidade (OEPP, 2000): 1, planta sã; 2, 0 – 25 % área foliar com sintomas; 3, 25 – 50 % área foliar com sintomas; 4, 50 – 75 % área foliar com sintomas; 5, 75 – 100 % área foliar com sintomas (redução do porte, cloroses, necroses)

Análise estatística - A análise de variância dos ensaios individuais; análise em série; comparação das curvas de dose-resposta obtidas nos ensaios combinados para as populações R e S a determinado herbicida. Modelos não lineares de 4 parâmetros do tipo E ($y = A + C / 1 + \exp(-B(XM))$) foram ajustado aos resultados de peso verde (% Testemunha) de cada população (Seefeldt *et al.* .1995), utilizando o pacote drc, em R (Ritz & Streibig, 2005) permitindo obter os valores de ED50. A partir destes determinaram-se os níveis de índices de resistência ($NR = ED50, \text{população Rn} / ED50, \text{população S}$).

Bibliografia:

BECKIE H. J., HEAP MI, SMEDA JR, HALL ML (2000). Screening for herbicide-resistance in weeds: *Weed Technology*, 14: 428-445.

CALHA I. M., ROCHA F. , 2004 - Modo de acção dos herbicidas e prevenção da ocorrência de resistência adquirida. *Revista de Ciências Agrárias*, XXV, 1 e 2 , 79-103.

COLLAVO A., GAUVRIT C., MUELLER N., SATTIN M., DEPRADO R., 2009b - Glyphosate resistant weeds in Europe: a review: 473-476. in: Sousa *et al.* . (eds) *Herbologia e Biodiversidade numa Agricultura Sustentável*, XII Congresso SEMh/XIX Congresso ALAM, II Congresso IBACM, Lisboa, Vol 2. IsaPress. 452 pp.

DINELLI G., MAROTTI I., CATIZONE P., BONETTI A., URBANO J.M.,
BARNES J., 2008 - Physiological and molecular basis of glyphosate resistance
in *Conyza bonariensis* biotypes from Spain, *Weed Research*, 48, 257– 265.

HEAP I.M., 2010 - International survey of herbicide-resistant weeds, available at
<http://www.weedscience.org>, accessed July 2010

HRAC, 1999 - Detecting herbicide resistance- guidelines for conducting diagnostic tests
and interpreting results. *Herbicide Resistance Action Committee*

OEPP/EPPO, 2004 - EPPO Standard PP 1/213 (2). Resistance Risk Analysis, Efficacy
Evaluation of Plant Protection Products – General Standards: 76 – 93, Paris (GB).

RITZ C., STREIBIG J.C., 2005 - Biossays Analysis using R. *Journal of Statistical
Software* 12, available at URL <http://www.bioassay.dk>; accessed in 11.04.05

SEEFELDT S.S., JENSEN J.E., FUERST E.P., 1995 - Log-logistic analysis of dose-
response relationships, *Weed Technology*, 9, 218-227.



ANEXOS VIII

Quadros com dados originais

S	h0 0	h1 180	h2 360	h3 720	h4 1440	h5 2880	h6 5760
I	0,6	1,37	4,66	2,02	0,89	1,34	0,56
II	10,94	4,14	1,54	3,47	1,14	1,81	1,13
III	11,23	4,21	4,55	0,41	1,21	1,84	1,13
IV	10,5	6,17	0,97	1,33	2,08	1,72	1,45
MÉDIA 4 Reps	8,3175	3,9725	2,93	1,8075	1,33	1,6775	1,0675
MÉDIA 3 Reps	10,89	4,84	3,58	2,27	1,48	1,79	1,24
Sintomas	0	5	25	75	75-100	80-100	90

B3	h0 0	h1 180	h2 360	h3 720	h4 1440	h5 2880	h6 5760
I	18,33	7,926	18,32	17,25	2,07	2,647	1
II	18,14	15,26	16,76	13,81	4,659	1,424	1,227
III	17,37	11,55	10,98	5,7	1,66	1,364	1,068
IV	15,94	11,26	0	4,85	0,14	1,13	0,95
MÉDIA 4 REPS	17,445	11,499	11,515	10,403	2,132	1,641	1,061
Sintomas	0	0	0-2,5	10-25	25,50,100,100	50,75,75,100	80,100,100,100

C	h0 0	h1 180	h2 360	h3 720	h4 1440	h5 2880	h6 5760
I	14,95	14	3,5	3	2	1	0,793
II	4	7	4,369	6	2	1	7
III	4	8	5	11	2	8	1
IV	4	6	7	8	3	0,775	1
MÉDI A4 REPS	7	9	5	7	2	3	3
Sintomas	0	5	2,5-5	5	25-50	15, 75,75,75	80,90,50,100

Concent.[]	h0 0	h1 180	h2 360	h3 720	h4 1440	h5 2880	h6 5760
População S	8,32	3,97	2,93	1,81	1,33	1,68	1,07
População B3	17,45	11,50	11,52	10,40	2,13	1,64	1,06
População C	6,74	8,72	5,05	7,05	2,23	2,87	2,67

ANEXOS IX

Fotografias do ensaio

